FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE RENNES

THÈSE N° 13

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA DÉSINFECTION CHIMIQUE DES ATMOSPHÈRES

## Etude des propriétés antibactériennes de cinquante-quatre huiles essentielles

**THÈSE**

pour le Doctorat d'Université mention Pharmacie
présentée et soutenue publiquement
le 16 Mai 1962

par

**SARBACH Raymond**
Né le 16 Octobre 1914 à CHERBOURG (Manche)

| | | |
|---|---|---|
| *Président du Jury :* | M. le Professeur | GRÉGOIRE |
| *Membres du Jury :* | M. le Doyen | LAMACHE |
| | MM. les Professeurs | CORMIER |
| | | COUTEL |

Imprimerie
m. lescuyer et fils / 139, cours albert-thomas, lyon

1962

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA DÉSINFECTION CHIMIQUE DES ATMOSPHÈRES

Etude des propriétés antibactériennes
de cinquante-quatre huiles essentielles

# FACULTÉ MIXTE
# DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE RENNES

## PROFESSEURS

| | | |
|---|---|---|
| Clinique Médicale | MM. | LAMACHE<br>*(Doyen de la Faculté)* |
| Chimie Pharmaceutique | | TIOLLAIS<br>*(Assesseur du Doyen)* |
| Clinique Ophtalmologique | | ARDOUIN |
| Clinique Médicale | | BOUREL |
| Clinique Oto-Rhino-Laryngologique | | BOURGUET |
| Histologie | | CHAMBON |
| Chimie Analytique | | CHAUVEL |
| Anatomie Pathologique | Mme | CHEVREL |
| Matière Médicale | MM. | CORMIER |
| Bactériologie et Hygiène | | COUTEL |
| Parasitologie et Zoologie Appliquée | | DOBY |
| Pharmacie Galénique | | GRÉGOIRE |
| Physique | | GUELFI |
| Clinique Chirurgicale | | GUIHENEUC |
| Anatomie | | HUARD |
| Biochimie Appliquée | | LE GAC |
| Biologie Expérimentale | | LE GUYON |
| Clinique des Maladies Infectieuses | | LEROY |
| Pathologie Chirurgicale | | MARUELLE |
| Physiologie | | PATAY |
| Clinique Neuro-Chirurgicale | | PECKER |
| Clinique Chirurgicale | | PELLE ABEL |
| Pathologie Générale et Interne | | SAMBRON |
| Clinique Obstétricale | | TOULOUSE |
| Thérapeutique | | VIVIEN |

## MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS ET AGRÉGÉS

| | | |
|---|---|---|
| Ophtalmologie | MM. | CATROS |
| Chirurgie Générale | | DUHAMEL |
| Thérapeutique | | GASTARD |
| Médecine Générale | | GOUFFAULT |
| Chimie Biologique | | JOUAN |
| Anatomie | | LANCHOU |
| Oto-Rhino-Laryngologie | | LIMBOUR |
| Physiologie | | PAULET |
| Médecine Générale | | RICHIER Jean Laurent |
| Médecine | | SABOURAUD |
| Chirurgie Générale | | SOURNIA |
| Pharmacologie | | VAN DEN DRIESSCHE |

*La Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Rennes déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.*

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544724_0001

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE RENNES

THÈSE N° 13

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA DÉSINFECTION CHIMIQUE DES ATMOSPHÈRES

## Etude des propriétés antibactériennes de cinquante-quatre huiles essentielles

## THÈSE

pour le Doctorat d'Université mention Pharmacie
présentée et soutenue publiquement
le 16 Mai 1962
par

**SARBACH Raymond**
Né le 16 Octobre 1914 à CHERBOURG (Manche)

| | | |
|---|---|---|
| *Président du Jury :* | M. le Professeur | GRÉGOIRE |
| *Membres du Jury :* | M. le Doyen | LAMACHE |
| | MM. les Professeurs | CORMIER |
| | | COUTEL |

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

imprimerie
m. lescuyer et fils / 139, cours albert-thomas, lyon
1962

## A NOTRE MAÎTRE

### MONSIEUR LE PROFESSEUR F. GRÉGOIRE

Professeur de Pharmacie galénique et d'hygiène
à la Faculté mixte de Médecine
et de Pharmacie de Rennes

*qui nous a inspiré ce travail, nous a prodigué ses conseils et ses encouragements et nous a fait le grand honneur d'accepter de présider cette thèse.*

*En témoignage de notre respectueuse gratitude.*

A Monsieur le Professeur LAMACHE

Doyen de la Faculté mixte de Médecine
et de Pharmacie de Rennes

A Monsieur le Professeur CORMIER

Professeur de Matière Médicale

A Monsieur le Professeur COUTEL

Professeur de Bactériologie et d'Hygiène

*qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir juger notre travail.*

A Monsieur le Docteur G. GIRON

*qui a très largement mis à notre disposition ses compétences en matière de documentation.*

A Monsieur M. CARRAZ

Chef de service à l'Institut Pasteur de Lyon
Chef de travaux de la chaire de bactériologie
de la Faculté mixte de Médecine
et de Pharmacie de Lyon

*que nous remercions d'avoir bien voulu nous ouvrir son laboratoire et nous faire bénéficier de sa longue expérience dans le domaine de la bactériologie de l'air.*

A Mademoiselle M. MESNIER

Moniteur de la chaire de bactériologie
de la Faculté mixte de Médecine
et de Pharmacie de Lyon

*qui nous a apporté une aide précieuse dans la réalisation matérielle de ce travail.*

A NOS MAÎTRES

DE LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

A NOS MAÎTRES

DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

*en témoignage de notre reconnaissance.*

MEIS ET AMICIS

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA DÉSINFECTION CHIMIQUE DES ATMOSPHÈRES

---

**Etude des propriétés antibactériennes de cinquante quatre huiles essentielles**

# *INTRODUCTION*

*Le problème de la pollution atmosphérique a pris ces dernières années une importance croissante.*

*Certes l'attention du public est tout spécialement attirée vers la question de la pollution chimique de l'air telle qu'on la constate dans les grandes villes et les régions industrielles, mais le problème de la contamination bactérienne de l'atmosphère conserve tout son intérêt pour l'hygiéniste.*

*On sait en effet l'importance épidémiologique des infections à transmission aérienne (air born sicknesses des auteurs anglo-saxons) dont la propagation rapide par contagion interhumaine ne va pas sans graves conséquences sociales et économiques.*

*Certes, depuis l'ère antibiotique, l'aspect bactérien de l'infection aérienne a peut-être un peu diminué et l'avenir semble plus volontiers appartenir aux infections virales responsables des grandes pandémies mondiales telles que la grippe.*

*Cependant les microbes demeurent et posent encore aujourd'hui un problème préoccupant aussi bien comme agents responsables de diverses infections, que comme facteurs de surinfection et d'aggravation de certaines viroses, surtout lorsque la surpopulation multiplie les occasions de contact infectant.*

*De plus le rôle des microbes reste prépondérant en art vétérinaire et dans de nombreuses branches de l'activité humaine : industrie pharmaceutique, alimentation, produits d'origine organique (colles, caséine, textiles, tannerie, etc. etc.) où de nombreuses dépraédations surviennent sous leur action.*

*La lutte contre la pollution bactérienne de l'atmosphère apparaît donc comme une nécessité difficile à discuter.*

*Dans l'ordre médical, d'ailleurs, il y a longtemps que la désinfection terminale a été imposée légalement en France après guérison ou après décès, en cas de maladie à déclaration obligatoire.*

*Mais une telle désinfection, réalisée au formol, ne peut être opérée que dans une pièce libre de tout occupant, en raison des inconvénients que présente cet agent chimique pour les êtres vivants et l'homme.*

*Elle est devenue particulièrement difficile et parfois impossible dans les appartements surpeuplés.*

*Il nous a paru préférable de chercher s'il est possible d'instituer une désinfection continue en présence soit du malade, soit de son entourage, atteignant ainsi le but prophylactique qui répond à la préoccupation majeure de l'hygiéniste.*

*Cette considération nous a conduit à étudier tout spécialement les huiles essentielles qui en dépit d'une utilisation très ancienne ne nous semblent pas avoir été jusqu'à présent suffisamment explorées.*

*Malgré le regain d'intérêt qu'ont connu récemment les huiles essentielles dont l'étude a grandement bénéficié des progrès de la bactériologie moderne, il n'apparaît pas qu'une étude systématique rigoureuse en ait été faite et il reste difficile de juger de la valeur des désinfectants du commerce les mettant en œuvre.*

*En effet si l'autorisation officielle obligatoire qui leur est imposée apporte la garantie d'un examen de leur efficacité, les produits du commerce échappent à tout contrôle chimique rigoureux, leur composition exacte n'étant jamais dévoilée par les fabricants.*

*Cette situation nous paraît difficilement acceptable pour le pharmacien qui étant donné son rôle d' « éducateur sanitaire et social » et sa vocation d'hygiéniste se trouve souvent consulté en matière de désinfection de l'atmosphère et qui, compte tenu de sa formation, ne saurait conseiller que des produits définis, de valeur scientifiquement démontrée et parfaitement contrôlables.*

*Nous avons donc consacré notre travail à des huiles essentielles de nature connue, fournies par une maison spécialisée, répondant aux normes de la Commission de Normalisation du Syndicat National des Fabricants et Importateurs d'Huiles essentielles.*

*Nous avons voulu étudier du point de vue bactériologique les huiles essentielles ainsi définies par un ensemble de méthodes comparables en rigueur à celles utilisées par exemple dans l'étude des antibiotiques.*

*Une connaissance complète du rôle antibactérien des huiles essentielles nous a cependant paru exiger préalablement une étude de la nature des germes à combattre et des divers procédés de désinfection chimique auxquels on peut les comparer.*

*C'est pourquoi, nous nous proposons le plan de travail suivant :*

1) *Etude de la flore bactérienne des atmosphères, en envisageant les moyens d'exploration et d'étude mis en œuvre d'une part et d'autre part la nature et l'importance des germes rencontrés ainsi.*

2) *Etude des procédés chimiques de désinfection en passant en revue les agents chimiques utilisés dans ce but et leurs procédés de répartition.*

3) *Etude des huiles essentielles en envisageant :*

— *L'aspect historique, les méthodes d'étude, l'innocuité.*

— *Le pouvoir antibactérien étudié microbiologiquement par comparaison avec le phénol, le formol et les antibiotiques ce qui fera l'objet d'une importante partie expérimentale.*

*Cinquante-quatre essences ont été testées par trois méthodes microbiologiques différentes sur six germes choisis parmi les Gram positifs ou négatifs pouvant exister dans les atmosphères urbaines contaminées et en tout état de cause, représentatifs du degré de pollution.*

*Nous espérons ainsi pouvoir conclure à la place de choix que nous paraissent pouvoir occuper les huiles essentielles dans la désinfection des atmosphères compte tenu de leur haute efficacité et de leur commodité d'emploi.*

*Nous terminerons par une étude bibliographique.*

*La bibliographie correspondante est considérable puisque nous avons rassemblé 845 références.*

*Il nous a paru légitime de mentionner seulement celles que nous avons invoquées dans le texte ainsi que les publications les plus importantes dont certaines comportent elles-mêmes une abondante bibliographie.*

I

# ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE GÉNÉRALE

# Historique

Les problèmes épidémiologiques qui se sont posés depuis la plus haute Antiquité se sont vus résolus peu à peu à partir du moment où l'on a mis en évidence la pollution microbienne de l'air.

L'attention fut attirée dès 1600 avant Jésus-Christ, par l'existence des maladies saisonnières ; d'où les invocations aux dieux, capables de purifier l'air, retrouvées dans un papyrus égyptien.

Hippocrate dès 400 avant Jésus-Christ voit le rôle favorisant des changements de saisons et des mauvaises conditions de vie dans la naissance des épidémies.

Au Moyen Age avec Frascator (1546) et Van Leuwenhœck (1680) on cherche à éviter la propagation des épidémies de peste et de choléra par la mise en quarantaine.

La nocivité des atmosphères confinées donna naissance à la théorie de la « génération spontanée » par effluves et miasmes organiques.

Mais il fallut attendre les travaux de Pasteur (1862) pour détruire cette hypothèse et prouver scientifiquement l'existence de microorganismes dans l'air, lesquels sont prélevables, cultivables, visibles au microscope. C'est d'ailleurs Pasteur qui inventa le premier appareil à prélèvement des germes de l'air.

Ces travaux intéressèrent Claude Bernard, puis Lister, lequel montra la possibilité de détruire ces microorganismes par des antiseptiques.

En 1888, Petri décrivit un filtre destiné à l'analyse bactériologique de l'air.

En 1897, Flügge étudia les « *Droplet Infections* » par particules de salive contaminée en suspension dans l'air.

Trillat en 1918 étudia le mouvement de particules chargées de *Bacillus prodigiosus ;* en plaçant des boîtes de Pétri à plus de 100 mètres du point d'émission, il vérifia l'importance de la distance à laquelle sont transportés les aérosols microbiens. Alors, il réalisa des épidémies expérimentales chez les animaux et montra le rôle de l'air expiré dans la transmission des maladies.

L'étude de certaines particules sèches de très petite taille bénéficia des travaux photographiques de Jennison puis de Johansson et Ferris qui virent la dissémination des microorganismes dans l'air pendant les manipulations de laboratoire.

En 1946, Duguid rendit visibles par coloration les particules salivaires émises par les éternuements, toux et paroles.

En 1947, Boyland, Gaddum et Mc Donald, étudièrent la pénétration de ces particules chez l'hôte, ainsi que Ames et Nungester.

Les travaux de Wells en 1948 étaient considérables, et l'amenèrent à prouver la nécessité de désinfecter certains locaux. En effet les gouttelettes rhinopharyngées ou laryngées émises par l'homme dans l'air sont dispersées au loin, se dessèchent en « *droplet nucléi* » et peuvent ainsi rester longtemps en suspension dans l'atmosphère, transportant des germes contaminants vivants. Un seul éternuement permet l'émission de plus de cent mille particules infectées (Bourdillon et Lidwell).

Enfin cet auteur administra des doses déterminées d'air infectant à des lapins en vue d'une étude de la tuberculose expérimentale.

Les travaux récents se portent surtout sur la confection d'appareils en vue de la collection des microorganismes.

Maisonnet (1956) décrit « l'Hydroaéroscope » et établit une classification des germes de l'air.

Dans les collectivités et les milieux hospitaliers on étudie le contage rhino-pharyngé des maladies infectieuses. L'attention se tourne surtout vers les streptocoques hémolytiques, les staphylocoques pathogènes, les escherichiae, le bacille de Koch, les virus.

Le problème se pose d'éviter au maximum le pouvoir infectant de l'air par les procédés mécaniques, physiques et chimiques d'asepti-sation, un degré de stérilité important n'étant exigé que dans certains cas : chirurgie, salles de brûlés, conditionnement pharmaceutique.

# Flore de l'air

Reprenant les travaux de Maisonnet nous diviserons les micro-organismes de l'air en deux flores: *une flore de base*, et *une flore accidentelle*.

## I. - FLORE DE BASE

*La flore de base* comporte, selon Miquel, Parker, Proctor et Maisonnet, sept genres :

*Bacillus* : *subtilis*, *cereus*, *ruminatus*, *aerosporus*, *simplex*, *albolactis*, *megatherium*, *praunitzii*, *mesentericus*.
*Sarcina* : *lutea*, *flava*.
*Micrococcus* : *candidus*, *auriantiacus*, *rodochreus*, *cinnabareus*.
*Aspergillus* : *fumigatus*, *niger*, *flavus*, *flavescens*.
*Penicillium* : *glaucum*, *lanosum*, *frequentans*.
*Mucor mucedo*
*Saccharomyces glutinis*.

Cette flore de base, souvent sporulée, est la plus résistante. Sa recherche se fera surtout entre 20 et 22°. Elle est indépendante du lieu de prélèvement, de la latitude, du climat.

## II. - FLORE ACCIDENTELLE

En dehors de la flore de base pratiquement permanente décrite ci-dessus, on retrouve dans l'atmosphère une flore accidentelle variable. Elle compte environ 14 % de germes saprophytes variés et la proportion de germes pathogènes y est donc importante. Ceux-ci sont plus fragiles que les saprophytes et devront être recherchés par culture à 37°. Leur origine est l'homme sain porteur de germes, ou l'homme malade atteint d'infection respiratoire, cutanée, digestive, urinaire.

Cette flore comporte :

— Bactéries,
— Champignons,
— Virus.

a) Les bactéries.

— *Les Staphylocoques pathogènes*, ont pu être isolés sur milieu de Chapman modifié (M. Carraz - A. Bertoye).

Le staphylocoque doré a été isolé dans l'air et la literie d'un service d'Urologie par Schawabacher, dans l'air d'une salle d'opération par Wolf, Harris, Dyer. Le type bactériologique le plus fréquent étant le type 80-81.

— *Les Streptocoques* ont été recherchés par de nombreux auteurs. En 1948, Loosli, Lemon, Wise, Robertson et Hamburger isolent des streptocoques hémolytiques dans les casernes, Pollard dans une maternité, Colebrook et Ross dans une salle de traitement de brûlés, Williams dans la poussière des planchers, la détection se faisant sur gélose au sang, au cristal violet.

Rosenow isole des streptocoques non hémolytiques au cours d'épidémies saisonnières d'infections respiratoires.

Gordon, de son côté, attache à la recherche des entérocoques dans l'air la même importance et la même signification qu'à celle du colibacille dans les analyses d'eau.

— *Les Escherichiae pathogènes* ont pu être isolés par Le Minor dans une salle de nourrissons où sévissait une épidémie type 111 B4. L'ensemencement se fait sur gélose additionnée d'éosine et de bleu de méthylène (Cujetanovic).

— *Les Salmonella.*

*Salmonella typhi-murium* a été découvert par Bate et James dans une clinique infantile où sévissaient des épidémies de gastro-entérite transmises par les poussières de l'air.

— *Proteus.*

Des proteus furent trouvés par Edebo et Laurell dans l'air de salles de malades atteints d'infections urinaires. Mamaichuk étudie leur distribution dans l'air environnant.

— Parmi les *anaérobies*, *Clostridium tétani* a été recherché par Lowbury et Lilly dans l'air d'une salle d'opération.

— Les *bacilles tuberculeux* posent des problèmes particuliers. Ils sont difficilement détectés, même dans les sanatoriums.

Effenberger, les trouve plus facilement dans les lieux publics, Riley dans l'air hospitalier ; Brun et Viallier dans les salles d'autopsie, par sédimentation ou barbotage dans de l'eau stérilisée.

— On trouve encore fréquemment dans l'air :

*Diplococcus pneumoniae* (Varella Percastegui à Mexico).
*Neisseria catarrhalis.*
*Klebsiella pneumoniae.*
*Hemophilus pertussis.*

*Pseudomonas aeruginosa.*
*Corynebacterium xerose.*

b) Les champignons inférieurs.

L'apparition dans l'air d'espèces pathogènes peut être à l'origine de nombreuses mycoses cutanées, ou respiratoires. L'humidité importante favorise leur développement.

c) Les virus.

Gastinel et Fasquelle étudient la nébulisation du virus vaccinal et sa propagation aérienne. L'épidémie de grippe de 1918 avait déjà soulevé l'hypothèse de ce mode de transmission.

Rechmensky et Mitchenko préconisent de capter les aérosols de virus grippaux sur une éponge imbibée de gélatine.

Le pouvoir pathogène des aérosols viraux a été déterminé par Lester et par Wells.

## Facteurs intervenant dans la dissémination et la reproduction des germes de l'air

a) Les véhicules microbiens :

Ils sont représentés par :

— Poussières supports.
— Gouttelettes bactériennes.
— Droplet nucléi.

— *Les poussières* ont pour origine la matière solide, débris minéraux, végétaux ou animaux. Elles sont mises en suspension avec les courants d'air. Leur diamètre est de 10 à 100 microns. Leur vitesse de chute est très rapide et va jusqu'à 0,30 mètre par seconde. Elles peuvent capter à leur passage des particules microbiennes plus petites pour les agglomérer. Leur durée de suspension dans l'air est courte (Wells, Winslow, Robertson 1946). Leur dispersion se fait en nuages. Leur concentration est très élevée localement. La durée de l'infection de ces poussières est variable selon les germes.

Dans les poussières des rainures de plancher à l'abri de la lumière les germes restent longtemps virulents, particulièrement le streptocoque hémolytique. Les organismes transportés sont le plus souvent des saprophytes groupés en amas, qui sont arrêtés par les fosses

nasales et la muqueuse pharyngée. Toutefois, certains germes peuvent entraîner des infections endémiques du rhinopharynx.

— *Les gouttelettes bactériennes :* (Wells et coll.).

Leur origine en est le mucus nasal et laryngé. Elles sont suspendues dans l'air par « atomisation » étudiée particulièrement par des procédés photographiques spéciaux. Supérieures à 100 microns, souvent de 1 à 2 millimètres (Duguid) elles proviennent d'efforts expiratoires violents, toux, éternuements, parler haut.

Vu leur volume, elles atteignent le sol très rapidement, en moins de 10 secondes, et sont en évolution rapide et constante sous l'influence de l'évaporation, qui dépend du diamètre des particules, de la température, du degré hygrométrique de l'air, du rayonnement, de la concentration ionique de l'atmosphère (Krueger, Smith, Go). Inversement il peut s'y condenser des vapeurs en atmosphère saturée. Evaporation ou condensation sont très rapides, si bien que leur dispersion est réduite dans l'espace, bien que leur concentration soit intense sur le champ. Leur pouvoir infectant est immédiat et se fait par *contact direct*. Elles portent des saprophytes et des pathogènes.

— *Les « droplet nucléi » :* Wells découvrit qu'après évaporation des gouttelettes, il persistait ensuite longtemps dans l'air leurs noyaux de condensation qui ne tombent pas au sol ; en effet leur vitesse de chute, d'environ 0,03 millimètre par minute, est négligeable par rapport aux mouvements de convection ou de turbulence atmosphérique. Ils ont un temps de suspension dans l'air extrêmement long, pouvant ainsi être transportés par le vent à grandes distances. Leur dimension est très petite, 1 à 3 microns, leur concentration diffuse et diluée. De charge souvent négative, tantôt saprophytes, tantôt pathogènes, ils arrivent facilement et directement jusqu'aux poumons sans être arrêtés par les voies aériennes supérieures. Leur sédimentation est impossible, seuls les appareils électrostatiques les détectent.

b) Autres facteurs influençant la dissémination.

— Les basses températures ralentissent le développement microbien qui est pratiquement nul dans les réfrigérateurs, sauf pour certaines espèces, selon Brown *(Achromobacter - Micrococcus - Pseudomonas)*.

— L'humidité : L'air n'est pas un habitat favorable pour les microorganismes, beaucoup périssent dès qu'il sont déshydratés, bien que certains puissent parfois s'adapter à la dessiccation et survivre

car la résistance à la déshydratation diffère significativement d'un germe à l'autre.

Pour le pneumocoque par exemple, Dunklin et Puck montrent que la mortalité est très forte pour 50 % d'humidité relative, s'il s'agit d'une solution saline à 0,5 % ou de salive. Au-dessus ou au-dessous de ce taux, les pneumocoques survivraient longtemps. Il y aurait donc un degré critique de déshydratation, dont l'action pourra éventuellement favoriser celle des désinfectants.

— Le régime des vents et des saisons, modifie la teneur en germes de l'atmosphère par les courants aériens qu'ils créent, les variations de pression barométrique, la formation de brouillards, l'ionisation de l'air. Les vents soulèvent les poussières-supports et diminuent la sédimentation, mais ils font varier le degré hygrométrique.

— L'altitude est un facteur de purification de l'air, bien que les microorganismes puissent atteindre des altitudes considérables (Proctor) mais l'irradiation solaire plus importante diminue leurs possibilités de survie. L'air de la mer est pur (Sartory et Langlais, Miquel, Moreau et Fischer).

L'air des villes est plus pollué que celui des campagnes. Gattefossé donne les chiffres comparatifs de la teneur en germes par $m^3$ des endroits suivants :

Chamonix : 4
Berk : 8
Appartement parisien : 4 000 à 20 000
Gare Saint-Lazare : 325 000.
Salon de l'auto : 9 000 000.
Récepteur téléphonique : 550 000 000.

La présence d'individus est donc un facteur de pollution (Gerbeaux, Meyer, Mozziconacci).

Les conclusions de Velu et Guillot (citées par Jude) sont les suivantes :

« — *La teneur en germes de l'air diminue avec l'altitude et*
« *l'éloignement des côtes et des lieux habités.*

« — *Elle est plus élevée dans les villes que dans les campagnes.*

« — *Dans les maisons, elle est plus élevée dans les pièces petites,*
« *mal ventilées, que dans les grandes pièces ; dans les chambres*
« *sales et non nettoyées que dans les locaux propres et surtout*
« *après balayage.*

« — *Elle dépend de la densité de la population et de l'activité* « *du milieu.*

« *Elle augmente pendant le jour et diminue pendant la nuit.*

« *Elle varie avec les saisons et les conditions météorologiques.*

« *Elle est beaucoup plus élevée les jours de grand vent et pendant* « *les mois secs de l'été que durant les mois humides de l'hiver.* ».

## Problèmes posés par certaines flores particulières

a) Hygiène humaine individuelle.

L'élévation anormale de la teneur de l'air en germes pathogènes peut augmenter la propagation des infections et permettre l'atteinte d'un plus grand nombre d'individus. Il est donc intéressant de diminuer le pourcentage des germes pathogènes dans l'air. Il est cependant difficile et inutile d'ailleurs, sauf dans certains cas, de chercher à stériliser complètement l'atmosphère. Par contre, il est évidemment d'un haut intérêt de maintenir un taux de germes aussi bas que possible et cela de façon permanente. C'est là où réside l'avantage de la désinfection « continue » ou « permanente » par rapport à la désinfection « discontinue » ou « terminale ».

b) En milieu hospitalier.

Le problème est capital car les dangers de pollution se sont multipliés depuis l'augmentation du nombre des hospitalisés et des consultants. Une source importante d'infections d'origine aérienne permet la naissance de surinfections chez les blessés. Anderson et Sheppard prouvent la dissémination aérienne de staphylocoques dorés par les couvertures de laine infectées. Lipp cherche à lutter contre les porteurs de salmonella en milieu hospitalier.

Il existe des problèmes particuliers et très importants.

— En salle de chirurgie la longueur de certaines interventions minutieuses nécessite un fort degré de stérilité de l'air, pour éviter la surinfection ; la lutte préventive contre ces infections permet d'éviter un abus d'antibiotiques. Or les sources de pollution sont nombreuses et parfois inattendues. Ranger et O'Grady ont par exemple montré l'émission de staphylocoques par une pompe chirurgicale.

— Il faudrait une stérilité poussée dans les salles de traitement de brûlés, dont la résistance à l'infection est diminuée, et dont les plaies sont d'importantes portes d'entrée.

— Dans les services d'urgence, les consultations, les salles de radiographie, la fréquentation de malades nombreux et différents crée une pollution intense.

— La pollution aérienne des crèches et des salles de maternité a fait l'objet de nombreux travaux : Rosenstern, Helve, Ocklitz et Romeikat insistent sur les fautes possibles du personnel infirmier.

L'attention est attirée dans les crèches par les épidémies de staphylococcies, les diarrhées à *Escherichia coli* spécifiques, les affections streptococciques à streptocoques hémolytiques, les scarlatines, les rougeoles et affections virales diverses. M. Carraz et A. Moulin ont étudié la pollution totale, et la pollution relative en staphylocoques pathogènes et non pathogènes, et leurs variations saisonnières, particulièrement à l'Hôpital Edouard-Herriot à Lyon.

L'importance de la lutte antimicrobienne dans les services de prématurés a été vue par Martin Du Pan et M. E. Novel.

— Les services annexes des hôpitaux posent aussi des problèmes particuliers.

Les salles de buanderie, de triage du linge, les camions à linge, sont des réservoirs de germes et le transport du linge en fourgon permet une dissémination des agents contaminateurs.

On a vu naître des tuberculoses chez des employés de dépôts mortuaires de sanatoriums.

Dans les laboratoires bactériologiques il peut y avoir libération dans l'air de particulies infectieuses. Bentzen et Anderson montrent le rôle de l'air dans la contamination des travailleurs de laboratoire. Les centres de transfusion sanguine, la pharmacie, les centres de greffes etc. ont des normes de stérilité différentes, qui sont à préciser dans chaque cas.

c) Collectivités — transports en commun.

Les conditions de la vie moderne ont créé de vastes agglomérations surpeuplées si bien que collectivités et transports en commun, sont autant de foyers d'infection susceptibles d'être à l'origine de grandes épidémies.

Le pourcentage de cessation du travail pour affections des voies respiratoires transmises par l'air crée un absentéisme considérable dans les industries.

C'est ainsi qu'en 1943, 220 millions de journées de travail furent perdues aux U.S.A. pour ces raisons. Chez les troupes en campagne, ces infections d'origine aérienne sont des plus fréquentes également.

Dans les collectivités d'enfants, colonies ou établissements scolaires, les enfants risquent une contamination par les porteurs de germes.

Karabasevic, Arsic et Pagon tirent les conclusions intéressantes de l'état hygiénique de 12 restaurants de Belgrade, tandis que Huddleson et Hall ont étudié l'air d'un hall destiné aux divertissements et ont montré sa pollution intense.

d) Fabrication et conditionnement industriel.

La fabrication et le conditionnement industriel doivent souvent être effectués en atmosphère stérile c'est le cas de certains produits pharmaceutiques, en particulier de tous les produits injectables, de tous les médicaments non stérilisables par la chaleur, de la préparation de produits immunobiologiques (sérums-vaccins), du sang et dérivés du sang (plasma, gammaglobulines, etc...) Il existe des normes standardisées de stérilité (Duchenne 1959). Citons parmi de nombreux auteurs : Arienti (stérilisation de l'air destiné à la manipulation des produits pharmaceutiques) ; Mme Priolet (contrôle de l'atmosphère dans une usine de fabrication et de conditionnement pharmaceutique).

La mise sous ampoule des produits nécessite un air purifié et stérile.

e) Industrie alimentaire.

Dans l'industrie alimentaire il est des cas où un air stérile est souhaitable.

Lorsque l'on veut éviter, à tous les stades de la production, la souillure bactérienne des aliments frais, il est nécessaire de contrôler la pollution de l'air qui joue un rôle évident dans le temps de conservation.

L'industrie de la conserve d'aliments solides ou liquides comme les jus de fruits doit compter également avec la pollution microbienne de l'atmosphère.

La diversité des techniques crée de nombreux problèmes particuliers. Citons par exemple l'embouteillage des laits pasteurisés ou stérilisés et des eaux minérales, le conditionnement du beurre et des corps gras, la conservation de la viande fraîche, etc. etc.

f) En hygiène vétérinaire.

Les principaux travaux sont dus à L. Joubert. Cet auteur a montré que, dans les porcheries par exemple, l'air subit non seulement une pollution chimique par le surpeuplement, le défaut d'aération, mais aussi une pollution microbienne par les « microbes essentiels » venant des animaux malades, et par les « germes de sortie » : pasteurella, enterobactéries et pyogènes.

Le porc carencé en vitamine A voit la résistance de son terrain diminuer après pulvérisations microbiennes, même non pathogènes.

« *L'agression microbienne répétée constitue de loin le facteur* « *le plus dangereux pour la santé des porcs d'engraissement en* « *alimentation poussée et, par conséquent, la désinfection continue* « *apporte un élément efficace de lutte* » (L. Joubert).

De plus Joubert montre que la lutte contre la pollution chimique et microbienne des locaux permet de développer la respiration pulmonaire et tissulaire des animaux zootechniquement forcés, tels que les porcs, qui déformés anatomiquement par sélection, sont disposés à l'anoxie par la diminution du volume de leur cage thoracique.

Jusqu'à présent, seule la désinfection discontinue est légale en milieu rural.

Mais l'on pourrait pratiquer une désinfection continue de complément, indispensable pour la prévention des maladies dans les grands élevages.

Elle permet de :

« *combattre le microbisme de porcherie, de poulailler, d'étable,* « *de bergerie, et la pollution chimique des locaux mal aérés et* « *surpeuplés* ». (L. Joubert).

On conçoit, à la lumière de ce rapide rappel de la bactériologie de l'air, quels problèmes peut poser la pollution microbienne de l'atmosphère et quelles incidences elle peut avoir tant du point de vue de la médecine humaine que de celui de l'art vétérinaire ou de certaines industries.

Les conséquences humaines, sociales et économiques que peut entraîner une pollution incontrôlée par les germes de l'air rendent évidente la nécessité de la désinfection.

II

# TECHNIQUES D'ÉTUDE ET DE PRÉLÈVEMENT DES GERMES DE L'AIR

# I. - Etude des différents procédés décrits dans la littérature

Le nombre des méthodes préconisées est impressionnant.

C'est en 1861 que Pasteur décrivit le premier appareil à prélèvement des germes de l'air ; il employait des ballons scellés sous vide ainsi que des « bourres » solubles et insolubles.

Les études se multiplièrent en Europe d'abord, tandis que les appareils modernes sont surtout anglo-saxons.

Il existe cinq procédés fondamentaux d'analyse bactériologique de l'air :

— La sédimentation simple sur milieu de culture ;
— La sédimentation accélérée par projection violente ;
— La précipitation électrostatique.
— Le barbotage ou sédimentation en milieu liquide ;
— La filtration sur support soluble ou insoluble.

Nous les décrirons successivement.

a) **La sédimentation simple.**

En 1881, Koch utilise ce procédé très simple : exposition de milieux de culture solides à l'air, suivie d'incubation à 37° et de dénombrement des colonies.

Ce procédé dit « de la boîte de Pétri » ne permet pas de connaître la concentration microbienne dans un volume d'air connu ; elle ne recueille que de grosses particules microbiennes et les « noyaux secs », supports de bactéries pathogènes, échappent à la numération.

Cependant cette méthode est encore très souvent utilisée de nos jours car elle permet des analyses multiples et rapides.

C'est ainsi que MM. Fabre R., Cruveilhier L. et Mme Magnier de la Source l'utilisent pour le contrôle de l'efficacité des produits destinés à la désinfection « continue » ou « permanente » (Laboratoire national du Ministère de la Santé Publique).

L'évaluation de la pollution de l'air se fait de la façon suivante :

Des boîtes de Pétri sont exposées à l'air : elles contiennent un milieu de qualités nutritives bien précisées (bouillon peptoné gélosé).

Les boîtes sont placées deux par deux, côte à côte, au sol, à 1,50 m et à 2,50 m du sol et sont ouvertes pendant 15 minutes.

Elles sont ensuite refermées et placées à l'étuve à 37°, 3 jours, couvercle en bas. On procède à la numération des colonies tous les jours pendant ces 3 jours, et pendant les 11 jours suivants (les boîtes étant alors maintenues à la température du laboratoire).

La connaissance du nombre de colonies dénombrées avant un essai de désinfection, et pendant les heures qui la suivent, permet d'établir le pourcentage relatif de germes détruits, la rapidité et la durée efficace de la désinfection.

b) **La sédimentation accélérée.**

Les travaux de Wells ayant montré que les gouttelettes bactériennes sédimentaient lentement, on a essayé d'augmenter la vitesse de cette sédimentation et sa force, en utilisant la force centrifuge ou l'aspiration, créant une projection violente ou « impigement » sur le milieu de culture.

Ainsi le premier appareil de ce genre fut décrit par Wells en 1933. Cet appareil utilise l'aspiration de l'air par un cylindre tournant dont la force centrifuge envoie les particules microbiennes sur les parois d'un tube extérieur, sur lequel se dépose en même temps, en couche mince, le milieu nutritif préalablement fondu. L'entrée de l'air est régularisée et mesurée (28 l/minute), les bactéries sont collectées, poussent et peuvent être comptées sur l'appareil lui-même. Les milieux de culture peuvent varier selon les microbes recherchés.

Des travaux postérieurs ont amélioré le principe de cet appareil : ils cherchent à répartir harmonieusement sur le milieu de culture les germes prélevés.

C'est ainsi qu'en 1939 Hollaender et Dalla Valle utilisent l'aspiration au travers d'un entonnoir avec projection sur une boîte de Pétri contenant de la gélose molle nutritive ; 28 litres d'air sont aspirés à la minute. Les boîtes de Pétri sont mises à l'évude 48 heures.

C'est par une fente que l'aéroscope de Bourdillon, Lidwell et Thomas projette l'air sur le milieu (« *slit sampler* » 1941).

Cet « échantillonneur à fente » répartit les germes uniformément, car la boîte de Pétri sur laquelle ils se déposent est portée par un plateau tournant. Le débit est de 28 l à la minute.

Les résultats obtenus avec cet appareil sont incontestablement supérieurs à ceux de Wells ou de l'entonnoir. Il a été utilisé en 1951 par Goldberg et Shechmeister pour une étude épidémiologique des

infections respiratoires, et par Besson en 1955 pour l'étude bactériologique de l'air à Paris. (Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris).

Du Buy et Crisp en 1944 décrivent un appareil à « crible ». La fente est remplacée par un couvercle perforé de 300 ouvertures de 0,5 mm de diamètre, fermant une petite caisse contenant une boîte de Pétri, tandis que la partie inférieure de la caisse est reliée par un tube de sortie (dont le diamètre est inférieur à la somme des diamètres des ouvertures d'entrée d'air) à un système d'aspiration.

Plus le nombre d'ouvertures est important, plus la récolte microbienne est abondante. Le débit est de 28 l/mn.

Des quatre appareils qui viennent d'être étudiés, c'est l'appareil de Du Buy et Crisp qui donne les meilleurs résultats (Maisonnet 1955).

Andersen en 1958 utilise la précipitation sur un appareil comportant 6 plateaux superposés et perforés, surmontant des boîtes de Pétri. La sensibilité de l'appareil permet de calculer la taille des particules.

Enfin, Decker et Goll décrivent un nouvel échantillonneur à fente, avec incorporation d'une chambre incubatrice, qui permet une récolte continue des germes de l'air.

c) **La précipitation électrostatique.**

Ici, ce sont les propriétés des particules microbiennes de pouvoir s'électriser (Wells) qui sont mises en jeu.

Bill J.-P. l'utilise en 1919 pour recueillir la poussière de l'air.

Berry en 1941 utilisa un appareil où la force électrostatique s'ajoute à la force d'aspiration de l'air.

Luckiesh, Taylor et Holladay en 1946 ont inventé le « *Duplex electrostatic air sampler* ».

Deux boîtes de Pétri sont placées dans 2 unités de matière plastique. L'air est aspiré avec le même débit dans les 2 unités. Les boîtes de Pétri sont reliées à des électrodes, de telle sorte que les conditions électriques soient inversées l'une par rapport à l'autre. Les bactéries chargées sont collectées par la boîte de Pétri reliée à l'électrode de charge contraire. Les bactéries neutres sont collectées indifféremment sur chaque électrode.

C'est un appareil extrêmement commode, car léger, mais il n'est pas stérilisable.

C'est aussi sur le principe de la précipitation électrostatique que Maisonnet (1956) construisit « l'Hydroacroscope », qui analyse 20 litres d'air en 4 minutes. Cet appareil réunit les propriétés suivantes :

— Dissociation des poussières.
— Précipitation électrostatique.
— Répartition régulière des germes.
— Possibilité de contrôle par barbotage.
— Récolte des virus.

« *Il s'agit d'un appareil électrostatique muni de cribles de dissociation pour les poussières-supports ; les germes se déposent directement sur les milieux de culture obtenus dans les boîtes de Pétri. De plus un appareil à barbotate permet la récolte des virus et le contrôle du bon fonctionnement quantitatif de l'hydroaeroscope* » (Maisonnet).

Maisonnet inverse les polarités en cours d'opération pour recueillir les germes sur le milieu de culture.

La dissociation des particules se fait par deux cribles, dont la disposition géométrique des trous, de 0,8 mm de diamètre, permet une répartition régulière des germes sur le milieu de culture. Une fois déchargé de ses germes, l'air pénètre dans un système de barbotage, avec une grande violence réalisant en quelque sorte un « impigement ».

Récemment O'Connell décrit un petit appareil très simple : des cultures pures de germes venant de l'air sont obtenues par simple attraction électrostatique sur de petites baguettes cylindriques de verre et plastique, qui sont ensuite roulées sur plaque de gélose nutritive. L'équipement est donc réduit.

L'électrisation de la baguette est réalisée par frottement avec de petits morceaux de coton ou de fourrure.

Sauf dans le cas de ce petit appareil, les appareils électrostatiques présentent un inconvénient majeur : ils ne peuvent être stérilisés une fois montés et ils exigent une source d'énergie électrique importante.

d) **Les techniques de barbotage.**

Ce sont des techniques anciennes, très utilisées au début des recherches sur la bactériologie de l'air (Strauss, Miquel). Il s'agit d'un prélèvement indirect des germes de l'air par barbotage dans un milieu liquide ; celui-ci est ensuite ensemencé sur les milieux de culture appropriés.

Gattefossé en 1938 l'utilise pour tester l'action germicide de vapeurs d'huiles essentielles.

Wheeler et coll. en 1945 décrivent un appareil très simple : l'air barbote dans un liquide nutritif contenu dans une fiole d'Erlenmeyer où des billes de verre empêchent la formation de mousse.

« *L'Atomizer-Sampler* » de Moulton, Puck et Lemon fait précéder le barbotage d'une « atomisation » : l'air est humidifié de façon à former un brouillard, à l'aide d'un vaporisateur. L'air est aspiré ensuite dans la chambre de barbotage, où quelques gouttes d'huile d'olive empêchent le bouillonnement. Le liquide est ensuite coulé en boîte de Pétri avec de la gélose nutritive. Cet appareil permet un excellent épuisement des germes, mais il est peu maniable. Cependant il permet, de la connaissance de la quantité d'air aspiré et du nombre de germes recueillis, de déduire la concentration en germes par mètre cube.

L'appareil de Rosebury est un perfectionnement de celui de Wheeler ; il combine barbotage et « impigement ».

L'inconvénient de ces méthodes de prélèvement indirect est que des souches microbiennes peuvent être détruites avant l'ensemencement sur milieux de culture.

Leurs avantages sont la facilité de leur stérilisation et surtout la possibilité éventuelle de récolter des virus : l'on inocule le liquide, additionné d'antibiotiques, à des animaux de laboratoire. Les procédés de barbotage ont été utilisés comme méthode d'appoint par Fabre R. et Mme Magnier de la Source et coll. au Laboratoire National de la Santé Publique, dans la numération des germes vivants de l'air, dès 1950.

En 1955 Czajkowski décrit un tube en verre d'Iena, construit sur le principe d'un appareil pour lavage bactériologique.

Enfin, Albrecht en 1955 modifie l' « *atomizer-sampler* » de Moulton, et considère cette méthode comme fournissant les meilleurs résultats.

e) **Prélèvement des germes de l'air par filtration.**

Pour démontrer l'absurdité de la théorie de la génération spontanée, Pasteur utilisa la filtration de l'air sur des bourres solubles en coton-poudre.

La filtration sur bourres solubles et insolubles a été utilisée par divers chercheurs : sulfate de soude de Miquel, sable de Pétri, filtration sur papier par Proctor. Mais ces bourres peuvent détruire les germes.

Les filtres actuels sont composés de matériaux variés :

Kluyner et Visser en 1950 préconisent des filtres en coton, en stillite ou les filtres à charbon.

Mitchell et coll. (1954) utilisent un filtre soluble en mousse de gélatine, avantageux par temps froid et à altitude élevée, mais Guyton,

Porter et Lense en 1955 soutiennent que la mousse de gélatine est inutilisable ; Noller et Spendlove cependant montrent que les briquettes commerciales de gélatine sont des collecteurs efficaces d'aérosols de spores ; tandis que Rechmensky les utilise pour l'absorption des aérosols viraux, car l'on peut procéder, après dissolution du filtre, à toutes les investigations biologiques voulues.

La filtration sur glutamate de soude est préconisée par Kajiwara en 1954 et en 1958. Vanini prouve son efficacité en milieu hospitalier pour l'isolement de streptocoques et staphylocoques pathogènes.

L'ouate d'alginate de soude, filamenteuse, stérilisable à 125° et soluble dans l'eau (à pH 6,8) peut être inoculée sur milieux gélosés (Richards) ; elle retient 100 % des microorganismes de diamètre supérieur à 2 microns et plus de 99 % des spores sèches de *B. subtilis* (Hammond 1959).

Les filtres solubles, en lactose, glucose ou sulfate de soude stérilisés, seraient insuffisants selon Fabre.

La filtration de l'eau sur membrane a été étendue à l'examen bactériologique de l'air (Gohar, Albrecht). Les membranes peuvent être placées à l'étuve sur les milieux solides ou bien lavées, avec numération des germes dans l'eau de lavage.

Torloni décrit un filtre d'une simplicité extrême : disque de papier filtre (Whatman 40) reposant sur une couche de coton, supportée par un disque perforé fixé sur un entonnoir où l'air est pulsé. Cet appareil serait utilisable pour des filtrations prolongées et des vitesses rapides de circulation (10 $m^3$/minute pendant 2 heures).

Les papiers à charge d'amiante dont la porosité est faible, ont permis les expériences effectuées par le Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris, dans le métropolitain. Ils permettent l'arrêt parfait des microbes (papier Schneider CA 32).

Les membranes hemicellulosiques permettraient la récolte des virus. Les « *Millipore filters* » ou les membranes « *CO5* » permettent une séparation possible des germes de différentes tailles, sur tout un système de membranes pour pouvoir pousser l'étude qualitative des germes numérés.

Si la technique d'étude des germes de l'air à l'aide de filtres est intéressante d'un point de vue scientifique, son application au contrôle de l'efficacité d'un désinfectant a été l'objet de critiques, en particulier de la part de Fabre (1950). En effet le filtre retient à côté des germes des particules de désinfectant, ce qui nuit évidemment à l'objectivité des résultats.

## II. - Méthodes proposées

Les appareils précédemment décrits ont tous leurs avantages et leurs inconvénients. Il faudrait pouvoir obtenir une codification très précise des conditions d'expérience.

a) **Le procédé de sédimentation en boîte de Pétri,** déjà vu, a l'avantage de la simplicité et permet la multiplicité des prises d'essai.

Ce procédé est codifié par M. Carraz :

« *Cette méthode, rapide, permet d'avoir un résultat dans* « *les 24 heures. On peut accroître la précision de cette méthode en* « *utilisant plusieurs boîtes de Pétri aux mêmes emplacements,* « *en faisant la moyenne des colonies comptées sur les différentes* « *boîtes utilisées aux mêmes emplacements, et en fixant aussi les* « *délais de sédimentation.*

« *Nous nous permettons d'exposer en détail la technique* « *de sédimentation en boîtes de Pétri adoptée par le Centre et* « *Laboratoire d'Etude de la Pollution de l'Air de Lyon (Institut* « *Pasteur de Lyon). Les données que nous avons fixées après* « *plusieurs expériences nous permettent d'avoir des résultats* « *comparatifs très valables et de juger par cette méthode simple* « *de l'efficacité d'un appareil.*

« Technique générale :

« *Des boîtes de Pétri pyrex (100 mm de diamètre) séchées* « *et contrôlées par un séjour de 48 heures à l'étuve à 37°* « *contiennent :*

« *Soit une gélose glucosée (2 % gélose, 0,5 pour 1000* « *glucose) (G.G.) ;*

« *Soit une gélose au mannitol Chapman (Ch).*

« *On utilise toujours côte à côte une boîte de Pétri à gélose* « *glucosée (G.G.), une boîte de Pétri Chapman (Ch.) :*

« *Sur gélose glucosée, nous apprécions la contamination* « *totale (CT) ;*

« *Sur gélose Chapman, la contamination totale en staphylo-* « *coques (colonies rouges) (ST) et la contamination en staphylo-* « *coques pathogènes (colonies jaunes mannitol +) (SP.)*

« *Ces boîtes sont ouvertes très lentement en évitant les dépla-* « *cements brusques d'air et en contrôlant la respiration.*

« *Le temps de sédimentation est de quinze minutes en milieu* « *très pollué, trente minutes en milieu peu pollué (salle d'opération).*

« *Les boîtes refermées, pliées dans un papier stérile sont* « *déposées, dans les trente minutes qui suivent, à l'étuve à 37°* « *pendant 48 heures.*

« Remarques.

« *Les cultures sont effectuées à 37° si nous étudions la* « *pollution d'origine humaine, à 24° si nous étudions la pollution* « *par l'air extérieur.*

« *Les emplacements choisis, pour l'étude de la contamination* « *sont appréciés suivant les locaux à examiner. Nous veillons* « *cependant à multiplier dans un même local ces emplacements.* « *Nous utilisons au minimum quatre emplacements, si possible* « *deux emplacements au sol, deux emplacements au niveau des* « *tables ou rayonnages, au voisinage des individus pouvant séjourner* « *dans le local et susceptibles d'amener une pollution ; parfois* « *certaines expériences sont faites en air calme dans les locaux* « *fermés. Dans ce cas, nous prévoyons quinze minutes d'attente* « *avant d'ouvrir les boîtes de Pétri, pour permettre une stabili-* « *sation de la sédimentation. L'expérience nous a prouvé que* « *dans les plus mauvaises conditions cette sédimentation devient* « *pratiquement constante après quinze minutes.*

« Expression des résultats :

« *Nous donnons les résultats de la pollution au niveau de* « *chaque emplacement en l'exprimant par le nombre de colonies* « *examinées sur la totalité de chaque boîte de Pétri après quarante-* « *huit heures d'étuve. Nous obtenons en outre, par une moyenne* « *des chiffres de chaque emplacement étudié, un résultat total.*

« *On compte : CT = contamination totale*

*ST = staphylocoques totaux*

« *SP = staphylocoques pathogènes.*

« *On calcule les rapports :* $\frac{ST}{CT}$ *encore appelé* $\frac{Ch}{GG}$

« *et* $\frac{SP}{CT}$ *encore appelé* $\frac{Ch +}{GG}$

« *On peut rapporter sur papier millimétré et tracer des* « *graphiques.*

« Lectures des résultats.

« *Des photographies des boîtes de Pétri examinées après*

« *quarante-huit heures d'étuve donnent une idée rapide et générale* « *de la pollution.*

« *Les résultats chiffrés traduits ou non sur des graphiques* « *nous donnent une idée plus précise de la nature de la pollution.*

« Interprétation des résultats :

« *Appréciation générale d'une contamination : CT élevée* « *nous indique une pollution générale importante d'origine extérieure* « *ou humaine.*

« *ST et SP élevés nous indiquent une pollution cocci Gram* « *positifs particulièrement importante en staphylocoques, traduisant* « *éventuellement une possibilité de pollution d'origine humaine.*

« *Un rapport* $\frac{ST}{CT}$ *élevé, indique une contamination élevée* « *en staphylocoques.*

« $\frac{ST}{CT}$ *faible, indique une contamination faible en staphylo-* « *coques.*

« *Un rapport* $\frac{ST}{CT}$ *au-dessus de 0,50 ; contamination élevée* « *en germes de nature humaine.*

« *Entre 0,1 et 0 : contamination faible en germes de nature* « *humaine.*

« *Un rapport* $\frac{SP}{CT}$ *indique, s'il est élevé, une contamination* « *élevée en germes pathogènes ; s'il est faible, une contamination* « *faible. Au-dessus de 0,50, contamination élevée.*

« *Des graphiques peuvent donner une idée générale de la* « *pollution de chaque emplacement ou de la totalité des empla-* « *cements. On peut suivre l'évolution de la pollution.*

« Appréciation de l'efficacité d'un système :

« *Si nous avons à juger de l'efficacité d'un système nous* « *effectuons des expériences avant et après utilisation de ce système,* « *mais en respectant toujours les mêmes conditions (emplacements,* « *présence et nombre des individus, heure de la sédimentation,* « *sédimentation constante).*

« *Nous calculons le pourcentage de destruction des germes* « *(contamination totale, staphylocoques totaux, staphylocoques* « *pathogènes) par rapport à la contamination initiale. Ce pour-*

« *centage est déterminé pour chaque emplacement choisi et pour* « *la totalité des emplacements.*

« *Nous pensons qu'un système est efficace si nous trouvons* « *un résultat minimal de* 60 % *de destruction sur la totalité des* « *emplacements examinés (contamination totale, contamination* « *en staphylocoques totaux, contamination en staphylocoques* « *pathogènes).*

« *Si nous désirons un système particulièrement efficace contre* « *les germes d'origine humaine, le pourcentage de destruction* « *des staphylocoques totaux et des staphylocoques pathogènes* « *devrait être supérieur au pourcentage de destruction des germes* « *totaux (contamination totale) : dans ce dernier cas la chute* « *des rapports*

$$\frac{ST}{CT} \text{ et } \frac{SP}{CT}$$

« *démontre également l'efficacité d'un système sur la pollution* « *par les germes d'origine humaine.*

« Remarques :

« *Cette technique présente les inconvénients de la sédimen-* « *tation en boîte de Pétri, mais nous donne par la multiplicité de* « *ses prises d'essai un contrôle de cette sédimentation. En présence* « *d'individus, elle permet de fixer rapidement dans un local les* « *points particuliers de la pollution.*

« *L'application stricte des conditions fixées ci-dessus nous* « *permet de donner des chiffres avec une précision de l'ordre* « *de* 15 %, *de suivre une contamination, ou de juger de l'efficacité* « *d'un système.* »

(M. Carraz.)

b) **La seconde méthode proposée,** permet le prélèvement massif des germes dans les atmosphères peu polluées. Ce sont les **techniques de filtration** que nous avons vues précédemment :

Papier à charge d'amiante ;

Membranes hemi-cellulosiques au nitrate de cellulose.

Mais en fin de compte la méthode la plus en faveur car la plus simple, reste la sédimentation en boîte de Pétri.

III

# ÉTUDE DES PROCÉDÉS CHIMIQUES DE DÉSINFECTION DE L'AIR

# PRODUITS CHIMIQUES DIVERS

## I. - Historique et Produits utilisés

Que l'on cherche à réaliser une stérilisation vraie de l'atmosphère (c'est-à-dire la disparition de tous les microorganismes dans le but de rendre l'air aseptique), ou que l'on cherche à réaliser une simple désinfection de l'air, (c'est-à-dire à tuer seulement les germes pathogènes), soit pour une désinfection dite terminale (désinfection brutale, en fin de maladie, visant à lutter contre la contamination indirecte, de plus en plus abandonnée actuellement), soit pour une désinfection continue (permanente en cours de maladie luttant contre la contamination immédiate, au moment de l'émission des germes par le malade), à côté des simples procédés mécaniques adjuvants, visant à lutter contre les poussières-supports, ou les gouttelettes microbiennes (dépoussiérage, huilage des planchers et de la literie, port de masques), à côté des procédés physiques (lumière solaire, ultraviolets, ventilation, filtration, précipitation, chaleur sèche, utilisation de simple vapeur d'eau) il existe des procédés chimiques de désinfection, qui sont nombreux à l'heure actuelle, mais qui doivent être étudiés non seulement du point de vue de leur efficacité antibactérienne, dans l'air et sur les surfaces : parois des locaux et des objets, mais aussi et surtout vis-à-vis de leur toxicité éventuelle, puisque ces produits seront destinés à une imprégnation permanente des locaux en présence d'individus.

Nous passerons rapidement en revue quelques-uns de ces désinfectants, en insistant sur deux d'entre eux, les hypochlorites et les glycols, mais en réservant une étude particulière à un procédé ancien, qui revient à l'honneur actuellement, les huiles essentielles, qui feront l'objet de nos expérimentations.

— Lister fut le premier à utiliser des agents chimiques pour lutter contre la pollution de l'air, pulvérisant une solution phéniquée en milieu chirurgical ;
— Miquel étudia le chlorure mercurique.
— Par la suite, on pratiqua la désinfection terminale au moyen de produits gazeux : le formol et l'anhydride sulfureux.

**L'anhydride sulfureux** est connu depuis longtemps. Il s'utilise en atmosphère humide. Il est actuellement abandonné à cause de son effet corrosif (en présence d'eau et d'oxygène) vis-à-vis des métaux, des tissus végétaux et de certains colorants. Son action antibactérienne est d'ailleurs faible, mais c'est un dératisant et un insecticide.

**Le formol** ou formaldéhyde est un désinfectant puissant et très diffusible dont l'action a été découverte par Trillat en 1888.

Il peut servir non seulement à la désinfection de l'air et des surfaces, mais aussi à la désinfection en profondeur.

On peut utiliser la vaporisation d'une solution de formol du commerce, ou bien le trioxyméthylène, son produit de polymérisation, volatilisé par chauffage ou à l'aide d'une pâte combustible. La solution pure de formol est active dans l'air à la concentration de six parties par million.

La neutralisation après désinfection peut être réalisée à l'aide de vapeurs d'ammoniac, qui forment de l'hexamethylène tétramine.

Nous avons donc là le produit de base pour la désinfection brutale, terminale, après décès ou guérison d'un malade contagieux. Mais il est doué de propriétés irritatives marquées, aussi a-t-on cherché à utiliser des produits moins toxiques.

**L'ozone ;** dans la nature ce gaz contribue à la purification de l'atmosphère. Il est produit par l'action des radiations solaires sur l'oxygène atmosphérique, dans certaines conditions d'état électrique de l'air, d'état hygrométrique, de saison ou de radio-activité.

Il est maintenant utilisé dans les techniques modernes de conditionnement de l'air.

Sa production artificielle en grande quantité peut se faire au moyen de générateurs de haute fréquence, mais il y a toujours formation associée de produits toxiques si l'on ne part pas de gaz purs.

Le meilleur moyen de production d'$O_3$, mais en quantités limitées est la lampe à vapeurs de mercure : les longueurs d'onde des radiations ultraviolettes les plus actives sont comprises entre 160 et 180 millimicrons. Ces lampes fournissent environ 3 mg d'ozone à l'heure.

On peut y joindre un appareillage à turbines, dispersant le produit dans l'air.

*Toxicité :* L'ozone parfaitement pur est moins toxique selon Thorp, qu'on ne l'avait cru autrefois.

Les études de toxicité sur l'animal de laboratoire donnent des résultats assez divergents : 20 parties par million pourraient tuer le cobaye (Herbert et Stokinger).

Il faut deux à trois parties par million chez l'homme pour donner une irritation du tractus respiratoire, mais on peut déceler 0,02 à 0,05 parties par million par l'odorat.

Or, l'action bactériostatique se manifeste autour de 0,25 parties par million. La désinfection totale exige des concentrations supérieures, 1 à 3 par million.

*Résultats :* On a pu étudier l'action de l'ozone sur les germes sporulés ou non, sur les moisissures, sur certains protozoaires et même sur les virus grippaux, ou poliomyélitiques.

Il a été utilisé pour éviter la pollution des denrées alimentaires.

Carraz et coll. l'ont étudié comparativement à l'action des ultraviolets. Une batterie de 4 lampes, produisant 12 mg d'ozone à l'heure, avec brassage de l'air, et fonctionnant pendant quinze minutes réduit de 96 % la contamination totale de l'air, et de 98 % la contamination en staphylocoques fermentant le mannitol (décelés par la technique de sédimentation des germes en boîte de Pétri), chiffres comparables à ceux que l'on obtient par une irradiation directe par les ultraviolets (120 W).

Outre son pouvoir bactéricide, l'ozone est doué d'un pouvoir désodorisant, et, par excitation légère des terminaisons nerveuses cutanéomuqueuses il réalise une agréable sensation « d'air frais ».

A côté de ces produits gazeux, on a cherché à utiliser des solutions de désinfectants mis en suspension dans l'air par divers procédés permettant un contact avec les germes de l'air.

On a utilisé surtout phénols, hypochlorites et glycols.

**Phénols et leurs dérivés.**

L'action antibactérienne de la *résorcine* (diphénol) a été vue pour la première fois par Trillat en 1888. Elle a été étudiée par la suite par Pulvertaft en 1939.

Présentée commercialement en adjonction avec la glycérine, elle fut étudiée au Laboratoire Central de l'Armée par Jame, Sohier

et Trillat. Grâce à un appareillage à moteur produisant des aérosols vrais, ils obtiennent à la dose de 20 ml par 100 $m^3$, pendant 20 minutes, une désinfection dont l'action se maintient 4 heures (cité par Jude et Girard).

La solution dans l'éthylène-glycol, l'alcool à 90c et l'eau, a été utilisée par Kliewe en Allemagne contre de nombreux germes, par création d'aérosols pendant quarante minutes environ.

*L'hexylrésorcine* a été utilisée en solution à 10 % dans le propylène-glycol en présence d'alcool sulfoné (0,50 %) (Andrews, Twort et Baker). Les doses à employer seraient plus faibles, et la lenteur d'action serait compensée par la persistance.

*Les phénols chlorés* sont très étudiés. Ils sont bien tolérés.

Schwartz étudia la toxicité du $G_{11}$ ou hexachlorophène. Ce produit serait inhibé par les détergents non ioniques tels que le Tween 80.

**Les Hypochlorites.**

En 1918, pendant la pandémie de grippe, on alimenta les dispositifs d'humidification de l'air d'une filature du Landcashire, avec une solution d'hypochlorite de sodium.

Les premiers essais de nébulisation d'hypochlorites ont été effectués par Douglas, Hill et Smith en 1928, à partir d'eau de mer électrolysée.

En 1938, Masterman indiqua le mode d'emploi des hypochlorites, ainsi que Elford et Van den Ende en 1945.

*Mécanisme d'action :* Les hypochlorites de sodium ou de calcium en présence du gaz carbonique de l'air, donnent naissance à de l'acide hypochloreux.

Pour Noyes et Wilson c'est l'anhydride hypochloreux qui serait actif. Le $CO_2$ des locaux favorise l'apparition des produits actifs, de même qu'un degré hygrométrique adéquat : 60 à 90 %, d'après Bourdillon et Elford.

*Mode d'emploi :* On peut utiliser soit la pulvérisation de solutions d'hypochlorite de sodium, à l'aide d'appareils plus ou moins perfectionnés, soit faire passer un courant de $CO_2$ sur de l'hypochlorite de Ca.

La persistance des hypochlorites dans l'air est inférieure à trois minutes.

*Rôle de différents facteurs :* Il faudra tenir compte de la température des locaux, de la protection éventuelle des germes par une

couche de poussière, ou par un liquide organique (salive) et du fait que les germes déjà fixés sur les parois sont les plus résistants.

*Toxicité et inconvénients :* Edward et Lidwell n'ont observé aucune action sur l'état général de la souris et du chat, mais une irritation passagère des muqueuses respiratoires et oculaires.

Chez l'homme la concentration de 1 pour 2,5 millions, dans l'air, d'une solution d'hypochlorite à 1/100, provoque des picotements nasopharyngés et des quintes de toux. Mais cette dose est nettement supérieure à la dose bactéricide.

Le plus grave inconvénient est l'effet corrosif sur les métaux en atmosphère humide.

*Résultats :* Les doses actives ont, dans de nombreux travaux, été trouvées inférieures à la dose irritative (1 pour 2,5 millions).

Mastermann obtient un taux de réduction des germes de l'air de 99 % en pulvérisant 1 g de solution d'hypochlorite de sodium à 1 % pour 40 $m^3$ d'air.

Bourdillon, Lidwell et Lovelock utilisent cette même solution à la dose de 1 volume pour 13,5 millions pour tuer en quelques minutes la plupart des bactéries émises par des éternuements.

Andrews, avec 1 partie pour 5,6 millions tue 95 % des streptocoques.

Challinor avait obtenu des doses plus importantes : 1 pour 2,5 millions, dose irritante, ne tuait que 33 % des germes présents dans un local occupé par un grand nombre de personnes.

Elford et Van den Ende, montrent que l'acide hypochloreux gazeux agit à 0,1 — 0,3 parties par million.

L'action étant très fugace il y a lieu d'utiliser les hypochlorites de façon continue si on veut maintenir une désinfection efficace.

**Les Glycols.**

Alors que les glycols étaient considérés autrefois comme de simples solvants, Robertson montra le premier leur action antimicrobienne par vaporisation dans l'air, et Puck expliqua leur mécanisme d'action.

Les deux produits les plus utilisés, car ils se révélèrent les moins toxiques, sont le propylène-glycol et le triéthylène glycol, qui n'offrent aucun danger d'explosion dans les conditions habituelles d'emploi.

Le premier utilisé fut le *propylène-glycol.* Son point d'ébullition est de 187° et sa tension de vapeur, à 22° est de 0,1 mm Hg, ce qui

correspondrait à une concentration de 0,41 mg par litre d'air à 28 % d'humidité relative. La concentration maximum de vapeur dans l'air est inversement proportionnelle au taux d'humidité relative de l'air, et proportionnelle à la température ambiante.

Mais, d'autre part, un certain degré d'humidité est nécessaire pour l'action antibactérienne. Si bien qu'il existe une valeur optimum d'humidité relative pour l'action du propylène glycol, se situant autour de 50 % d'humidité relative.

La concentration minimum de vapeur dans l'air nécessaire pour tuer 95 % des *Staphylococcus albus* en moins de dix minutes, à 28 % d'humidité relative est de 0,19 mg/litre (Puck).

Nous voyons donc qu'il y a une marge suffisante entre la concentration bactéricide et la concentration de vapeur saturante, ce qui fait la valeur pratique de ce désinfectant pour les petits locaux — (Harris et Stokes). Au-dessus de la concentration de vapeur saturante on obtient une condensation du produit sur les parois du local.

Robertson et Puck ont montré dans des locaux de volumes différents, que la dose de 1 g pour environ 3 $m^3$ d'air stérilise rapidement des aérosols bactériens et viraux. Pour Bigg et coll., 0,2 g par $m^3$ suffisent pour détruire tous les microorganismes.

Le pneumocoque serait le germe le plus sensible, le staphylocoque blanc serait plus résistant, et les spores de bacillus ne seraient pas touchées même par des doses fortes.

*Le triéthylène-glycol* possède les propriétés suivantes :

— Point d'ébullition : 287° ;
— Pression de vapeur saturante à 22° : 0,001 mm Hg, soit 0,0087 mg par litre d'air.

La concentration de vapeur que l'on peut obtenir dans l'air est donc infiniment plus faible que celle du propylène-glycol, mais il se révèle que son action bactéricide est beaucoup plus forte.

95 % des staphylocoques blancs sont tués en 10 minutes, à 28 % d'humidité relative, par une concentration de 0,0060 mg/litre.

Nous voyons qu'ici la marge est faible entre la concentration bactéricide et la concentration saturante puisqu'à 0,01 mg/litre apparaît un brouillard.

Cependant le prix de revient de ce produit est un avantage.

Bigg, Jennings et Fried détruisent tous les micro-organismes avec des doses de 0,005 mg de triéthylène-glycol par litre.

A des doses de 0,004 mg, ils obtiennent dans des baraquements militaires une réduction de 12 % des infections respiratoires d'origine aérienne, en particulier, streptococciques.

Aux glycols, certains auteurs conseillent d'associer le dépoussiérage, l'huilage des planchers et de la literie.

Wells avait fait une revue complète concernant 2 alcools et 7 glycols en comparaison avec le phénol et avait été un des premiers à constater le rôle de l'humidité de l'air. Quand elle croît, les pouvoirs bactéricides des triéthylène, diéthylène, propylène, monoéthylène-glycol, diminuent, l'activité maximum se situant entre 45 et 70 % d'humidité.

Pour Checcaci, le maximum d'activité du triéthylène-glycol se situe entre 40 et 60 % d'humidité relative.

L'action virulicide a été étudiée vis-à-vis des virus grippaux, psittacosique, ourlien (Krugman et Swerdlow).

L'action fongicide a été montrée par Wade.

Certains résultats expérimentaux se sont révélés moins favorables :

Mather et Mc Clure (Canadian Air Force) n'obtiennent d'action bactéricide qu'au prix d'une condensation excessive sur les parois.

Gilcreas et Read préfèrent les ultraviolets.

Grun pense que l'action des glycols serait une simple purification par sédimentation des gouttelettes bactériennes.

Pour Morelle, les glycols auraient une activité à peu près nulle, par opposition au phénol, au thymol, sauf vis-à-vis de *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus megatherium*, *Corynebacterium diphteriae*, (travaux cités par Kellner et Kobert).

Morelle conclut :

> « *Il faut faire des réserves sur l'action des dérivés glycoliques.*
> « *Il en est évidemment autrement pour les dérivés condensés avec*
> « *des noyaux phénoliques substitués* ».

*Toxicité :* Elle est contestée. Cependant propylène et triéthylène-glycols seraient de loin les moins toxiques.

Robertson a exposé pendant plus d'une année des animaux de laboratoire à des doses quotidiennes considérables par inhalation et par ingestion.

Maassen n'a observé aucun trouble organique avec des doses plus de 1000 fois supérieures aux doses bactéricides.

*Le mode d'emploi* devra tenir compte de la connaissance du point de saturation. (Girard).

On peut utiliser :

— La vaporisation ;
— L'entraînement par l'air chaud ;
— L'ébullition d'une solution de glycol (produisant un taux d'humidité donné) ;
— La nébulisation.

**Mode d'action des Agents chimiques.**

Certains agents chimiques agissent « in vitro » par un pouvoir bactéricide, propre et reconnu, c'est le cas des hypochlorites ou des phénols.

Mais la nébulisation de produits comme les glycols montre un pouvoir antibactérien qui n'existe pas par d'autres procédés.

Certains auteurs ont parlé d' « aérosols germicides » : action par contact direct entre la particule d'aérosol et la gouttelette bactérienne.

En fait, Puck a démontré que cette explication n'était pas valable et qu'il valait mieux employer le terme de « vapeur germicide ».

La pulvérisation, la brumisation ou la création d'aérosols véritables n'agiraient que dans la mesure où se produirait une vaporisation quasi-immédiate des produits. Ce mécanisme expliquerait le rôle des différents facteurs extérieurs sur le pouvoir bactéricide.

Les molécules à l'état de vapeur, viennent se condenser sur les particules microbiennes, l'effet léthal apparaît quand est réalisée la concentration bactéricide dans l'atmosphère péri-microbienne.

Cet effet est très rapide.

Puck cite comme exemple le propylène-glycol. En tube il n'agit que très lentement à une concentration de 70 %, sur *Staphylococcus albus* tandis que 0,5 mg par litre peut stériliser un air contenant des centaines de milliers de staphylocoques par pied-cube, en moins de 15 secondes.

Or une « collision » entre particules nécessiterait plusieurs heures pour avoir une action bactéricide.

Les vapeurs pures, en l'absence de tout aérosol, sont hautement bactéricides.

*Quels sont les facteurs de l'action bactéricide ?*

Il faut obtenir un taux de condensation des vapeurs sur les germes de l'air, égal à la concentration léthale, tout en utilisant une dose minimum de produit.

La concentration de la vapeur dans l'air, donc l'intensité de l'action bactéricide décroît quand l'humidité relative croît.

(à 100 % d'humidité relative, aucun germicide ne peut exister à l'état de vapeur).

Cependant, les composés solubles à l'intérieur des gouttelettes bactériennes accroissent l'efficacité. Les germes desséchés sont plus réfractaires. Donc, l'optimum d'humidité se situerait entre 30 et 65 %.

L'élévation de la température diminue l'action, car elle nécessite alors une plus forte concentration de vapeur pour atteindre le point de saturation, et on peut alors obtenir des effets désagréables pour les occupants du local.

## II. - Procédés de répartition des produits dans l'atmosphère

Mis à part le cas des produits gazeux il faut évidemment mettre en œuvre des appareils spéciaux pour répartir les désinfectants dans l'atmosphère.

On en distingue trois ordres, suivant les dimensions des particules émises.

— Les pulvérisateurs sont des appareils simples, fonctionnant à la main, et créant des particules liquides d'environ 100 $\mu$ de diamètre, retombant presque immédiatement en pluie sur le sol. Les produits employés sont mis sous pression. Le type de ces appareils est la « bombe pulvérisateur ». Leur utilisation nécessite le déplacement de l'opérateur dans toute la pièce à traiter. Elle n'est réalisable que dans les locaux à faible volume.

— Les brumisateurs créent des particules humides beaucoup plus fines (1 $\mu$) se dispersant en brouillard humide, se déposant plus ou moins rapidement.

Ce sont des appareils plus compliqués, fixes, actionnés par un moteur électrique (4700 tours/minute) envoyant les liquides sur un système de palettes en chicane qui les brise en tous sens. On peut y joindre un réchauffement à 45°.

Les brumes produites peuvent s'élever en colonne à plusieurs mètres de hauteur, retombant ensuite dans toute la pièce.

— Les créateurs d'aérosols vrais produisent des particules de diamètre inférieur à 1 $\mu$, dont le brouillard, parfaitement sec, analogue

à la fumée de tabac, a tendance à occuper le plus d'espace possible, ne retombe pas sur le sol, et persiste plus de 24 heures dans une pièce non ventilée.

Ces appareils comportent, en plus du moteur électrique, un compresseur : l'air sous pression entraîne le désinfectant sur un système de palettes en chicane, dont le nombre conditionne la finesse des particules. On peut y joindre un dispositif de réchauffement.

« *Les aérosols secs ont une charge électrique à elle seule* « *bactéricide, une rémanence considérable, une diffusion rapide,* » *qui les fait agir à la manière d'un gaz, grâce aux mouvements* « *browniens, et de plus ils n'humidifient pas les locaux* ».

« *Seuls les aérosols vrais peuvent attaquer les* droplet nuclei »

(Joubert.)

Ces deux derniers systèmes permettent d'opérer dans des locaux de plus grand volume.

Quels que soient toutefois le produit utilisé et le matériel mis en œuvre, l'assainissement de l'atmosphère doit répondre à certaines conditions qui ont été codifiées par Fabre et coll. et représentent les normes exigées par le Laboratoire National de la Santé Publique :

— Traitement simultané de la totalité de l'atmosphère d'une pièce ;
— Temps de contact obligatoirement court, pour éviter l'auto-résistance des microbes à l'action désinfectante, qui est possible, même en l'absence de virulence marquée ;
— L'appareil doit être portatif.

# HUILES ESSENTIELLES

## Définition et historique

Une définition précise est pratiquement impossible. On peut prendre comme définition de base, pour les huiles essentielles (appelées aussi huiles parfumées) :

« *Substances huileuses odorifères provenant de sources* « *naturelles, le plus souvent végétales, et distillables à la vapeur* ».

(Cade A. R.)

Ceci exclut les huiles fixées et certains corps parfumés non distillables à la vapeur. Cependant on peut y faire entrer quelques composés qui, par exception, ne peuvent être obtenus par distillation mais par extraction par un solvant, ou certains autres moyens.

On peut les classer d'après leur origine botanique, leur composition chimique ou leur action anti-microbienne.

Les huiles essentielles ne sont pas des corps chimiques définis, ce sont des mélanges de composants, certains d'ailleurs pouvant être prédominants. Il peut d'ailleurs y avoir synergie ou antagonisme entre ces composants.

Il n'y a absolument pas parallélisme entre la composition des huiles essentielles et leur activité biologique, ni entre leur pouvoir bactériostatique et bactéricide, ni même entre l'action antibactérienne et antifungique. Pour un même germe, l'action peut varier selon la souche utilisée. Enfin on ne peut comparer l'action des produits naturels, des extraits bruts, des huiles purifiées, si bien que la comparaison entre les travaux des différents auteurs peut difficilement être faite. De plus, l'état sous lequel sont utilisés ces corps, fait varier l'action biologique.

Ces huiles, insolubles dans l'eau, nécessitent l'emploi d'un solvant spécial ou d'un agent émulsionnant, lesquels modifient l'activité du produit.

On a établi des relations, assez lâches d'ailleurs, entre la composition chimique et l'action antimicrobienne. C'est ainsi que les huiles qui contiennent une forte proportion de phénols, sont souvent les plus actives, puis viennent les acides, leurs esters et leurs sels ; bien plus loin viennent les cétones et aldéhydes, et en dernier lieu les terpènes (d'après Cade).

La connaissance des huiles essentielles date de l'Antiquité la plus reculée, qu'elles soient utilisées dans des buts religieux ou pour embaumer des cadavres, pour préserver des denrées alimentaires ou pour se protéger contre les épidémies : c'est ainsi qu'Hippocrate avait limité l'extension de la « peste » à Athènes, par des fumigations aromatiques.

Après que Pasteur eût réfuté la théorie de la « génération spontanée » l'on chercha à lutter contre les microbes par des procédés chimiques, et

> « *c'est devant la carence ou les dangers de ces produits que l'on* « *songea aux produits odorants tirés des plantes* »
>
> (Gattefossé R. M.)

Une étude scientifique poussée commença à la fin du XIX^e^ siècle. On étudia d'abord les produits à l'état brut, puis les huiles distillables et enfin les composants de ces huiles individualisés chimiquement.

C'est Koch qui en 1881, étudia l'action bactéricide de l'essence de térébenthine sur les spores du charbon, et décrivit la célèbre technique dite « au fil », tandis que Miquel en 1883 reconnaît l'activité du thymol, et de l'essence d'amandes amères pour empêcher la putréfaction du bouillon de bœuf exposé aux germes naturels de l'air.

C'est toujours sur le *Bacillus anthracis* et ses spores que se portent les études de Chamberland (1887) ; Cadeac et Meunier (1889) ; C. Riedlin (1884) ; E. V. Behring (1890). Ce sont les essences de cannelle, d'origan, et de girofle qui sont les plus actives, soit en émulsion, soit à l'état de vapeur. Cannelle et girofle agiraient en 12 à 15 minutes : une émulsion à 1 % de girofle aurait un pouvoir 3 à 4 fois plus grand que le phénol.

En 1893, M. G. Bertrand et Forne étudient le pouvoir bactéricide du *Melaleuca viridiflora*, de même que Guegen en 1912 ; le bacille d'Eberth est inhibé par une solution à 1/1000 en bouillon, le

pyocyanique, très résistant, par 2,25 g/litre et le staphylocoque doré par 0,48 g par litre.

En 1906 H. Bruning fait une revue complète des huiles essentielles, étudiant leur action antibactérienne dans le lait, tandis que H. Kobert étudie leur valeur antiseptique envers les bacilles lactiques.

Martindale en 1910 fait une revue générale et donne des résultats quantitatifs selon le type de solution. Les résultats sont exprimés en prenant comme unité le pouvoir antibactérien du phénol, c'est le coefficient phénol, l'organisme test étant *E. coli*. C'est ainsi que l'origan est 25,76 fois plus actif que le phénol.

Origan..... 25,76
Thymol..... 25,29 et 19,4
Carvacrol..... 21,32
Géraniol..... 12,29
Cannelle..... 9,66 — 8 et 7,1
Girofle..... 8

Lucien Cavel en 1918 recherche la dose infertilisante de quelques essences sur un bouillon ensemencé à l'aide d'une fosse septique.

Thym..... 0,7 pour mille
Origan..... 1 pour mille
Cannelle de Chine 1,7 pour mille
Girofle..... 2 pour mille
Menthe..... 2,5 pour mille.

Pour Haller (1918) c'est aussi l'essence de thym qui vient en tête. Haller, (cité par Holmes) avait tenté d'expliquer que les pinènes permettant « l'ozonification » de l'eucalyptol, augmentent ses propriétés bactéricides.

Cochran et Perkins, puis Bachmann, avaient étudié l'action des huiles essentielles et des épices dans la conservation de certains aliments.

Dans sa thèse, Bonnaure en 1919, étudiant le pouvoir antiseptique par contact et par vapeurs donne la première place aux lavandes, au romarin déterpéné et au « salvol » à 100 %.

Gatti et Cayola 1922, classent comme hautement actives les essences de girofle, wintergreen, sassafras, santal citrin, thym, cannelle, camphre, envers *Micrococcus pyogenes aureus*, *Streptococcus pyogenes* ainsi que *Penicillium glaucum* et *Aspergillus albus*.

De nombreux travaux furent exécutés par Morel, Rochaix, Courmont, Sevelinge et Bay entre 1920 et 1937.

Avec l'utilisation de la méthode « au fil » de Koch, les essences les plus actives à l'état liquide sont : thym, citron, genièvre, menthol ; à l'état de vapeurs : citron, thym, orange, bergamote. Les vapeurs d'essence de citron agissant en deux heures sur le staphylocoque. Les affections des voies respiratoires sont enrayées par les huiles d'eucalyptus, de pin, de myrte, de myrrhe, de thym. Des cultures homogènes de bacille de Koch humain subissent une infertilisation totale par des solutions alcooliques étendues d'huiles essentielles telles que :

Eugenol..... 0,05 pour mille
Thymol..... 0,1 pour mille.

tandis que le phénol agit à 0,8 pour mille ; l'eugenol est donc seize fois plus actif, et le thymol huit fois plus actif que le phénol, sur le bacille de Koch.

Harvey entre 1922 et 1928 étudie l'action d' « antiferments » des huiles essentielles.

Bryant en 1924 étudie le pouvoir détergent des huiles essentielles et le compare au pouvoir bactéricide testé en coefficient-phénol, envers *Escherichia coli.*

Thym..... 12
Girofle..... 8
Citronnelle ..... 5,5
Lavande..... 4,4
Citron..... 3,8

Dyche-Teague présenta des travaux considérables sur le pouvoir bactéricide de parfums commerciaux envers *Micrococcus catarrhalis.*

Penfold et Grant, entre 1922 et 1926, portent leurs recherches sur des huiles d'eucalyptus australiennes, et de leurs principaux constituants chimiques, et donnent leurs coefficients phénol. Les chiffres prouvent l'importance des phénols naturels (thymol, eugénol), des alcools (géraniol, menthol), du citral et des aldehydes en $C_8$ ou $C_9$.

Myers et Thienes, étudient en 1925 l'action sur les levures : thymol et huile de cannelle sont plus actifs que le phénol à 1 %. Le thymol agit en moins d'une minute, tandis que la cannelle agit en 30 minutes, le menthol et l'eucalyptol en plus de 2 heures et le phénol à 1 % en 1 heure.

L. Sevelinge, consacra sa thèse en 1925 à l'étude des essences de menthe. Il montre que l'action par vapeurs est supérieure à l'action en solution alcoolique à 60 %. Il faut 2 heures aux vapeurs de menthol Codex pour tuer le staphylocoque. C'est le menthol qui est le

constituant le plus important des essences de menthe. La fonction phénol n'est pas nécessaire à la manifestation du pouvoir antiseptique.

Ainsi Guillot R. en 1930, montre l'importance des alcools linéaires tels que citronellol, rhodinol, linalol, tandis que l'action des terpènes, faible, est renforcée par ozonification.

Collier et Nitta, en 1930 ont étudié l'activité « in vitro » de 106 huiles essentielles en solution alcoolique, à des dilutions élevées envers staphylocoques, streptocoques, colibacilles, gonocoques et vibrion. Les essences données par les Lauracées auraient une action sur la majorité des germes. (Cannelle de Ceylan et Cassie.)

En 1930 Marsh et Maus, virent que l'action de chaque huile essentielle variait en fonction de l'organisme testé, qu'il s'agisse de *B. anthracis*, de *S. thyphosa*, d'*E. coli* ou de *M. pyogenes aureus*, l'action majeure étant celle des huiles de thym, laurier, cubèbe, piment et girofle.

Technique de l'établissement du coefficient phénol de Rideal et Walker.

Rideal et coll., en 1930 comparèrent les coefficients-phénol de certaines huiles en utilisant le procédé de Rideal-Walker, toujours utilisé. Bien que les chiffres obtenus fussent différents, leur ordre de grandeur relatif était respecté quand on passait d'une essence à l'autre.

On recherche les concentrations respectives du phénol et de l'antiseptique à étudier qui produisent dans le même temps la destruction d'un microbe.

*Titrage du pouvoir antiseptique du phénol.*

Dans 8 tubes stériles on verse 5 ml de dilutions de phénol depuis le 1/30, le 1/40, jusqu'au 1/100. Puis, on ajoute 0,1 ml d'un filtrat sur papier, d'une culture de bacille typhique de 24 heures.

Après 2 mn 1/2, 5, 7, 10, 12 et 15 mn, on prélève une anse de liquide de chaque tube que l'on ensemence dans du bouillon.

On constate après 3 jours d'étuve, qu'aucune culture ne s'est développée dans le bouillon ensemencé avec les dilutions au 1/30 jusqu'au 1/70. Le prélèvement de la dilution au 1/80 après 2 mn 1/2 a cultivé, tandis que les ensemencements après 5, 10, 15 mn ne se sont pas développés. A partir de la dilution au 1/90 tous les tubes de bouillon ont cultivé.

La dose test de phénol est la dilution au 1/70.

*Titrage du pouvoir antiseptique d'un corps à étudier.*

Pour étudier grossièrement la dilution active du corps, on prépare une échelle de larges dilutions au 1/10, au 1/100, au 1/1000 et au 1/10 000 de ml.

On suit la technique indiquée ci-dessus.

Dans 5 ml de chaque dilution on ajoute 0,1 ml de la culture de bacille typhique et après le même nombre de minutes on fait les prélèvements qui sont ensemencés en bouillon.

Après 3 jours d'étuve, aucune culture ne se développe dans les tubes ensemencés avec les dilutions au 1/10 et au 1/100 tandis que le microbe cultive dans les deux autres tubes.

Pour préciser l'activité de l'antiseptique on prépare une série de dilutions au 1/100, 1/200, 1/300 jusqu'au 1/1 000, puis on suit la même technique que ci-dessus.

Aucune culture ne s'est développée jusqu'à l'ensemencement de la dilution 1/300, tandis que la culture est abondante dans les autres tubes.

Le coefficient phénol du corps est $\frac{300}{70} = 4{,}30.$

Ce corps possède 4,30 fois le pouvoir antiseptique du phénol vis-à-vis du bacille typhique.

Dans la pratique, la dilution recommandée est 20 fois le coefficient phénol, soit dans le cas particulier la dilution au 1/80 de ml.

*Inconvénients.*

Le pouvoir antiseptique d'un corps recherché seulement avec une suspension microbienne en eau distillée est le principal inconvénient de cette méthode dont le résultat est différent vis-à-vis de la même suspension microbienne dans un liquide albumineux.

En 1932 Ruth Miller aux U.S.A. chercha à trouver un solvant pour les huiles essentielles, qui sont insolubles dans l'eau. La question fut résolue par l'emploi en quantités déterminées de glycérine, alcool, savon, eau, avec ou sans diéthylèneglycol. Les huiles les plus actives à l'état de dilution envers *B. typhosus* et *Staphylococcus albus* se sont révélés être le thymol, à 2 % en dilution de 1 à 25, agissant en 2 minutes ; le bétanaphtol à 2 % dilué de 1 à 5 fois, en 4 minutes ; l'eugenol à 4 %, agissant en 4 minutes, dilué 1 à 5 fois.

Risler en 1936 montra que l'on peut prolonger dans le temps l'action des huiles essentielles en leur adjoignant des éléments non

volatils tels que les résines. Cette fixation donne une action quasi-illimitée. Il montra d'autre part que les mélanges d'huiles essentielles sont beaucoup plus actifs que chacun de leurs constituants employé seul. Ainsi une pulvérisation dans l'air de *B. prodigiosus* en émulsion aqueuse, est détruite en 13 minutes par le mélange : thymol-terpinéol - essence d'amandes amères - essence de cannelle. La quantité d'essence projetée étant de 1 vingt millionième par rapport au volume de l'air.

R. M. Gattefossé, en 1919 étudia les propriétés bactéricides de quelques huiles essentielles puis fit une revue générale en 1938 dans son livre « Antiseptiques essentiels », où il décrivit l'action spécifique de certains corps aromatiques : les essences de pin, les essences de menthe, et les essences de lavande. Il décrit les expériences « in vitro » de l'Institut pharmaco-thérapeutique de Leyde, au sujet de l'huile soluble de pin, envers *E. coli*, *Proteus*, *B. pyocyaneus* et *Staphylococcus aureus*. Ce dernier est le plus résistant. Tandis que le bacille de Koch s'est montré sensible à 1 % d'huile de pin en 5 minutes. Ainsi « *l'huile de pin, associée à d'autres huiles essentielles destinées à agir* « *sur le staphylocoque, donne un désinfectant polyvalent de la plus* « *haute importance* » (Gattefossé). Le staphylocoque est détruit par les essences de menthe. Gattefossé décrit d'autre part les travaux de L. Giraud (1920) sur les essences de lavande.

De plus, il y a pour certaines essences une réduction d'action par le vieillissement.

En 1943 Blum et Fabian, en 1947 Dold et Knapp se portèrent vers les composés issus des épices. Selon les microorganismes testés, les huiles les plus actives furent l'huile de moutarde, d'oignon ou de girofle.

Citons maintenant les travaux plus récents :

En 1949 Bose mit en évidence des relations entre la constitution chimique et l'action microbiologique des huiles essentielles. C'est ainsi que les meilleurs germicides sont les alcools et aldéhydes. (Méthode de Rideal-Walker).

La technique utilisée en 1949 par Schrœder et Messing, est celle de la mesure des zones d'inhibition par disques de papier-filtre. Elle permet d'étudier l'efficacité relative des différentes huiles entre elles : huiles de cassie et de cannelle furent bactériostatiques aux plus hautes dilutions : 1/40 à 1/100 sur la majorité des microorganismes testés. Les huiles de pin agissent surtout sur les germes Gram négatifs. L'acide

cinnamique a une activité nulle quand on la compare à celle de l'aldéhyde cinnamique, et surtout de l'aldéhyde hydrocinnamique.

Bournot en 1949 recherche la nocivité des huiles essentielles sur les êtres vivants et particulièrement sur les plantes.

En 1951, Rolle et Mayer ont étudié l'influence des huiles de conifères sur le bacille de Koch. Elles possèderaient la « *propriété* « *particulière de dissoudre la substance sirupeuse des bacilles de la* « *tuberculose* ».

R. Witzenhausen, pense que l'action bactéricide est due à des phénols monovalents.

Maassen, en 1953 vaporise dans l'air des streptocoques hémolytiques d'origine buccale et obtient leur destruction par des fumigations d'huiles de pin, qui pourraient peut-être agir sur le bacille de Koch. Enfin ces huiles de pin n'agiraient que sur les bacilles hémothermes, pathogènes (35 à 39°) et n'auraient aucune action sur les germes normaux de l'air, saprophytes, mésothermes (5 à 35°). Elles seraient désinfectantes et non stérilisantes. Bien d'autres travaux, nombreux, ont montré l'intérêt de ces huiles de conifères.

Galloway, en 1952 montre l'action sur les moisissures, des huiles de cannelle, d'anis, de carvi, de girofle et de cumin à l'état de vapeur.

Au Japon Okazaki, s'applique à détruire non seulement les bactéries, mais aussi certains champignons. Ainsi contre *Trichophyton achorium* et *Epidermophyton*, agirent des concentrations de 1/8 000 et de 1/16 000 d'huile de girofle et d'eugenol.

Il vérifia que les huiles essentielles avaient une forte activité vis-à-vis du bacille de Koch.

Il trouva que les aldéhydes avaient une action supérieure à celle des alcools. L'action bactéricide vis-à-vis des champignons non pathogènes est moindre que celle concernant les pathogènes.

De 1954 à 1956 Kellner et Kober, réunissent en trois articles les résultats d'une expérimentation de très grande valeur portant sur un très grand nombre d'huiles essentielles. Leurs techniques d'étude sont très originales : utilisation d'une « hotte » de 3 $m^3$ d'une part, et d'autre part technique des micro-atmosphères en boîtes de Pétri. Nous analyserons ces techniques plus loin. Les auteurs font le recensement de 175 huiles dont ils étudient l'action envers huit microbes et un champignon. Ils en isolent 21 huiles particulièrement actives. Ils répartissent ces huiles selon la famille végétale dont elles proviennent.

Ils étudient dans une autre série d'expériences 127 corps chimiques dont ils évaluent l'activité. La comparaison de ces deux séries d'expériences, ainsi que l'élimination des produits nocifs, tels que certains phénols, les aldéhydes et cétones à une double liaison et certains terpènes, leur permet d'établir une liste des composés chimiques particulièrement actifs rencontrés dans les huiles essentielles. Enfin, en partant de ces corps, ils poussent plus loin l'étude chimique et recherchent les groupements moléculaires actifs.

Vu l'importance de ce travail nous en citerons les résultats.

1) Les vingt et une huiles essentielles sont classées dans les familles suivantes :

| | |
|---|---|
| Graminées | : essence de lemongrass. |
| Liliacées | : essence de jacinthe. |
| Synanthérées | : essence de semencontra. |
| Lauracées | : essence de cannelle de Chine |
| | essence de cannelle de Ceylan |
| | essence de feuilles de cannelle de Ceylan |
| | essence de camphre |
| | essence de linaloe |
| | essence de feuilles de laurier. |
| Myrtacées | : essence de cajeput |
| | essence d'eucalyptus |
| | essence de girofle. |
| Ombellifères | : essence de cumin |
| | essence de coriandre |
| | essence de carvi. |
| Labiées | : essence de menthe sauvage |
| | essence de menthe Pouillot |
| | essence d'origan d'Espagne |
| | essence de thym de France |
| | essence de sauge sclarée |
| | essence d'aspic. |

2) Les corps responsables de l'activité antibactérienne tout en étant dénués de toxicité sont :

Des hydrocarbures aromatiques : p- cymène.

| | |
|---|---|
| Des alcools | : linalol |
| | géraniol |
| | neriol |
| | a - terpinéol |

d - bornéol
alcool benzylique
alcool cinnamique
alcool cuminique.

Des phénols : thymol
carvacrol
eugénol
safrol.

Des aldéhydes : citronellal
citral
benzaldehyde
aldéhyde cinnamique
aldéhyde cuminique
aldéhyde salicylique.

Des cétones : puleyone
carvone
thuyone.

Des oxydes, terpènes, etc. : ascaridol
cinéol
terpinène
phellandrène
limonène
pinène
dipanthène.

Parmi ces produits, quels sont les groupements moléculaires actifs ?

Voici les conclusions de Kellner et Kober :

Pour les terpènes, les dextrogyres sont supérieurs aux lévogyres. L'activité est liée aux groupements isopropyls, surtout s'ils sont sur le noyau, et l'activité augmente avec le nombre de doubles liaisons.

Le p- cymène doit son activité à ses trois doubles liaisons, son groupe isopropyl et la possibilité de se transformer en carvacrol. L'activité des alcools terpéniques dépend du nombre de doubles liaisons. Les phénols les plus actifs sont ceux dont l'oxhydrile est libre (thymol et carvacrol) ou bien possède un pont oxyméthylénique. Les aldéhydes sont moins actifs que les alcools terpéniques. Le premier rang revient à l'aldéhyde de la cannelle puis au benzaldéhyde (poids moléculaire bas) La carvone vient au premier rang des cétones. Les hydroxyles phénoliques perdent leur activité après estérification sauf s'il se forme des ponts oxygène.

*En résumé :* D'après ces auteurs il faut insister sur le rôle joué par :

— Les doubles liaisons ;
— Les groupements isopropyls ;
— Les oxydriles ou les ponts oxygène ;
— La volatilité des produits ;
— Le faible poids moléculaire
— La présence des groupements actifs sur le noyau.

Sont utilisables surtout le p - cymène, quelques alcools terpéniques, et l'aldéhyde de la cannelle, qui sont relativement peu nocifs.

En 1956, J. Morelle étudie le problème de la désinfection de l'air et constate l'efficacité des huiles essentielles de conifères.

En 1954, Marchal et Girard établissent des règles de contrôle d'innocuité des désinfectants basées sur la mesure du poids de jeunes animaux de laboratoire (lapins nouveau-nés) soumis à des aérosols.

Parmi les travaux très récents, citons :

Mose J. R. et Lukas G. qui étudient l'action antibactérienne d'huiles essentielles et de leurs composants. Cette action varie selon le mode d'obtention du produit et de sa provenance. Certains antibiotiques diminuent le pouvoir antibactérien de l'huile de mélisse, tandis que celle-ci augmente le pouvoir inhibiteur des antibiotiques. Il peut se produire aussi l'apparition d'une résistance : après influence prolongée de l'huile de mélisse, *B. prodigiosus* voit sa zone d'inhibition diminuer de 4/5. La désaldéhydation de l'huile de mélisse produit son inactivation totale. L'action sous forme de vapeurs des huiles essentielles est plus importante si le filament-test imbibé de la solution bactérienne y est exposé encore humide. Enfin, il n'y a pas toujours parallélisme entre l'action bactéricide et l'action bactériostatique.

En 1958 Jasper, Maruzzella, Laurence Lignori, se portent sur l'action antifungique des huiles essentielles. Les essences d'origan, de lemongrass, de thym, d'écorce de bouleau douce et de sariette sont les plus fungicides. Certaines huiles déterpenées auraient une action supérieure à celle des huiles volatiles correspondantes.

Ces corps agiraient par les quinones comme inhibiteurs de l'amylase et de la catalase de quelques champignons.

Jasper C, Maruzzella, Percival, Henry A (1958), étudient aussi l'action antibactérienne de 100 huiles parfumées par la méthode des disques de papier filtre « in vitro », sur boîte de Pétri et mesurent le

diamètre d'inhibition. L'action fungicide est supérieure à l'action bactéricide. Sur les organismes sporulés l'action n'est le plus souvent que bactériostatique car la pénétration dans la spore est plus difficile.

En août 1959, Kienholz M. étudie l'action antimicrobienne en milieu liquide, dans du jus de raisin, et à l'état de vapeur en boîtes de Pétri, d'un mélange d'huiles essentielles, contenant surtout *H. menthae piperitae*, *H. eucalypti*, *H. coriandri*, *H. melissae indicum*, *H. rosmarini*, *H. thymi*, etc.

La dose bactériostatique en milieu liquide envers le staphylocoque est de 625 $\mu g/cm^3$ ;

La dose bactéricide de 1 250 $\mu g/cm^3$ ; et la dose active à l'état de vapeurs, de 625 $\mu g$ par $cm^3$ d'air.

De plus, ce mélange aurait des propriétés sédative, expectorante, spasmolytique et antiphlogistique, expliquant ses effets dans les infections respiratoires.

En 1959 Ritzerfeld étudie un produit à base de bornéol et de *Pinus sylvestris*, par des tests de dilution et par la mesure de la courbe de respiration des microorganismes à l'appareil de Warburg. Le bacille pyocyanique est le plus résistant. Le bacille de Koch voit sa croissance complètement arrêtée par une dilution au 1/100.

En 1960 L. Joubert, à l'Ecole Vétérinaire de Lyon, étudie la désinfection « continue ». Il insiste sur la valeur des appareils « aérosoliseurs » par rapport aux brumisateurs et aux pulvérisateurs. Il utilise les méthodes en microatmosphère en boîte de Pétri, préconisées par Kellner et Kober, ainsi que l'étude de la désinfection en « caissons » de 12 litres, avec contrôle par sédimentation en boîte de Pétri. A côté de la diminution quantitative des germes pathogènes de l'air par les aérosols d'huiles essentielles, il insiste sur l'atténuation de leur pouvoir virulent, tandis que le taux des germes saprophytes, « de défense », n'est pas perturbé. Il décrit des méthodes d'étude de la pollution virale. Un chapitre est consacré au pouvoir broncho-dilatateur et eupnéisant des huiles essentielles, ce qui est utile pour lutter contre l'anoxie de certains animaux sélectionnés (tels que les porcs suralimentés). Enfin, même la pollution chimique (ammoniac) est atténuée dans les atmosphères confinées par l'utilisation des huiles essentielles, qui, grâce à la présence de certains acides, permettent l'abaissement du pH.

On voit donc l'intérêt qu'ont suscité les huiles essentielles depuis l'antiquité jusqu'à nos jours. L'abondance des produits commerciaux à base d'huiles essentielles proposés pour la désinfection de l'air a

conduit, même dans l'ère antibiotique actuelle, à poursuivre ces études.

Malheureusement, les résultats des différents auteurs sont difficilement comparables car très rares sont ceux qui définissent nettement leurs conditions expérimentales et précisent sans ambiguïté la nature exacte des produits étudiés et les méthodes de travail, qui sont très différentes ainsi qu'on pourra le voir dans l'étude que nous en faisons maintenant.

## Méthodes d'étude des huiles essentielles

### I. - MÉTHODES D'ÉTUDE PAR CONTACT EN PHASE LIQUIDE

La principale difficulté technique d'étude des huiles essentielles en temps qu'agents antibactériens vient de leur insolubilité dans l'eau, donc dans les milieux de culture.

De nombreux auteurs ont proposé des moyens pour essayer de solubiliser ou tout au moins d'obtenir une émulsion stable, en l'absence de laquelle le « contact » germe-désinfectant ne peut être réalisé.

R. Miller (cité par Gattefossé) avait utilisé l'un des deux mélanges suivants :

| | I | II |
|---|---|---|
| Alcool | 28 parties | 31 |
| Glycérine | 22 — | 31 |
| Savon | 6 — | 6,6 |
| Eau | 13 — | 31 |
| Solvant non précisé (vraisemblablement diéthylène-glycol) | 31 — | — |

Mais la plupart des auteurs ont utilisé des solutions d'essences dans l'alcool, à des dilutions variables, qui sont ensuite jointes au milieu de culture.

Procédé de Chamberland (1887).

| | |
|---|---|
| Essence | 0,5 ml |
| Alcool | 10 ml |
| Solution à 1 % de saponine | 20 ml |
| Eau q.s.p. | 100 ml |

c'est-à-dire une émulsion au 1/200 d'huile essentielle. A partir de cette dilution de base, il réalisa des dilutions plus élevées en eau de levure (neutralisée à la potasse et stérilisée) titrant 1/2 200 et 1/13 200. Il ensemençait alors avec du sang charbonneux. Dans ces conditions, il obtenait les meilleurs résultats avec les essences d'origan et de cannelles de Chine et de Ceylan.

A. Morel et l'Ecole Lyonnaise utilisent la dissolution dans l'alcool et la répartition de cette solution soit en milieu de culture liquide, soit en milieux gélosés préalablement liquéfiés ; après ensemencement, ils coulent les milieux gélosés en boîte de Pétri. Les essences les plus solubles dans l'alcool sont les essences déterpénées. Par cette méthode ils montrent l'action prépondérante des essences de thym, citron, genièvre, menthe, vis-à-vis du staphylocoque, du méningocoque, du bacille typhique, du bacille de Lœffler et des spores du charbon.

P. Courmont, A. Morel et I. Bay ont utilisé la dilution alcoolique pour l'étude de l'action vis-à-vis du bacille de Koch de certaines essences et certains phénols.

Les solutions alcooliques sont mises en milieu peptoné-glycériné, réalisant des dilutions croissantes de l'agent chimique. C'est ainsi qu'ils ont obtenu les taux infertilisants suivants après douze semaines d'observation (cité par Porcher-Pimpard).

| | | |
|---|---|---|
| Phénol | 0,2 | pour mille |
| Gaiacol | 0,4 | » » |
| Thymol | 0,025 | » » |
| Essence de thym à thymol | 0,05 | » » |
| Essence de thym à carvacrol | 0,2 | » » |

Cavel, en 1918 utilise comme solvant soit l'alcool soit l'acétone, et répartit les solutions en bouillon gélatiné liquéfié.

Après ensemencement, il coule le milieu en boîte de Pétri, et les laisse à la température du laboratoire. De longs mois durant on observe la présence ou l'absence de pousse. L'infertilisation des milieux se trouve réalisée par les essences de thym, d'origan, d'orange, de verveine, de cannelle de Chine, de girofle.

C'est en milieu liquide que peut se réaliser l'étude du « *coefficient phénol* » selon la technique de Rideal et Walker. Les plus forts

coefficients phénol obtenus par les auteurs anglo-saxons ont été les suivants :

| | |
|---|---|
| Essence d'origan | 25,76 |
| Thymol | 19,4 à 30 |
| Carvacrol | 21,32 |
| Essence de thym | 13,38 à 14,85 |
| Essence de fenouil | 13 |
| Essence de *Cymbopogon martini* | 14 |
| Essence de cannelle de Ceylan | 7,1 à 9 |

D. Gardner et M. Caselli recherchent non pas un pouvoir bactériostatique, infertilisant, mais le pouvoir bactéricide.

Ils réalisent une solution d'essence, dans l'huile d'œillette neutre stérilisée.

C'est cette solution qui est ensemencée, et après des temps de contact croissants, ils repiquent en bouillon peptoné de sub-culture, et après 48 heures d'étuve à 37°, ils vérifient la stérilité par passage sur gélose.

La variété qui apparaît dans ces différentes méthodes et la difficulté d'en comparer les résultats rendent d'autant plus précieuse la méthode officielle proposée par Fabre, Cruveilhier, Mme Magnier de la Source, que nous citons ici.

On doit rechercher une action bactéricide, c'est-à-dire une destruction définitive du germe, empêchant sa reproduction ultérieure, même dans les conditions les plus favorables.

Le test sera quantitatif et utilisera donc des dilutions successives du produit à tester.

— Le milieu utilisé est en l'occurrence l'eau distillée (l'essai serait d'ailleurs d'autant plus sévère que le milieu utilisé serait plus nutritif). Mais les produits à tester sont souvent déjà, en l'occurrence, peu actifs in vitro, en milieu liquide.

— Les germes utilisés sont deux staphylocoques, deux colibacilles, de résistance connue aux antiseptiques courants, et un *Bacillus subtilis* sporulé.

— Si les produits ne sont pas miscibles à l'eau (et c'est le cas des huiles essentielles) la technique utilisée par Fabre est la suivante :

Réalisation d'un milieu demi-solide contenant 2 à 3 g de gélose pour 1 000 ml d'eau distillée, et empêchant la séparation des liquides de densité différente. Le contact avec les germes est alors possible.

— Les dilutions sont réalisées dans des tubes de 5 ml, chacun est ensemencé avec environ 500 millions de germes (de 24 heures)

ou 500 millions de spores (après culture de 7 jours, en bouillon, de *B. subtilis*).

— Quand l'agitation est réalisée, les tubes sont conservés à la température du laboratoire. Après des temps de contact de 10 minutes, 30 minutes, 1 h., 2 h., 4 h., 6 h. et 24 h., on effectue un repiquage de 0,1 ml de milieu, en bouillon de subculture. Les tubes de subcultures sont placés 7 jours à 37°.

Après observation quotidienne pendant 7 jours, on note :

— La dose d'antiseptique contenue dans le dernier tube ayant donné des subcultures stériles ;

— La dose contenue dans le premier tube ayant donné une pousse en subculture.

La moyenne, rapportée au litre, est la dose bactéricide, ou antibiotique, de la substance essayée.

— On peut vérifier l'existence d'un éventuel pouvoir bactériostatique, infertilisant ou antigénétique, en pratiquant de nouveaux passages à partir des bouillons de subculture, pour effectuer ainsi une dilution encore plus poussée de l'agent désinfectant.

J. Desbordes et B. Le Bourdelles en 1960, préconisent dans le contrôle, in vitro, de l'action des solutions antiseptiques, la recherche successive du pouvoir bactéricide, puis du pouvoir bactériostatique. Le pouvoir bactéricide s'étudie par contact entre les germes témoins et les solutions d'antiseptiques, avec soit repiquage en boîte de Pétri, soit filtration sur membranes. L'étude du pouvoir bactériostatique se fait en choisissant les concentrations d'antiseptique d'après la connaissance de la concentration bactéricide. C'est une étude dynamique, utilisant l'enregistrement de la courbe de croissance des germes-tests, au biophotomètre.

## II. - MÉTHODES D'ÉTUDE EN PHASE VAPEUR

Chamberland en 1887 avait vérifié l'action des vapeurs d'essences sur la bactéridie charbonneuse. Cette action met en jeu la volatilité différente des divers constituants des essences. Il est évident que l'action révélée ne sera liée qu'aux produits les plus volatils, et pourra ainsi être notamment différente de celle des mêmes essences agissant par contact direct.

L'étude des vapeurs d'essences, évite les problèmes de solubilisation en milieu liquide, et se présente d'autre part d'un grand intérêt quant à l'objet de notre étude, la désinfection de l'air.

Elle mettra en jeu soit des germes préalablement déposés sur un support (cordelettes, surface plane d'un milieu de culture) soit des aérosols microbiens artificiels, soit les germes naturels de l'air, et c'est alors que devront entrer en œuvre les techniques de prélèvement des germes de l'air.

1° Méthode « au fil » de Koch reprise par Morel et Rochaix.

Une cordelette est imprégnée d'un milieu de culture ensemencé avec un germe donné, puis desséchée (sauf dans le cas du méningocoque).

Les fils sont alors suspendus au centre d'un tube à essai bouché, leur extrémité descendant jusqu'à 3 cm au-dessus de la surface de l'essence à tester (1 ml).

On réalise à 37°, des temps de contact différents. Il se produit une vaporisation spontanée des essences. On effectue des repiquages de fragments de cordelette, en milieu du subculture.

2° « Microatmosphères » selon Kellner et Kober.

Elles ont permis à ces auteurs de faire un tri rapide parmi un très grand nombre d'essences à tester.

Une boîte de Pétri est ensemencée, sur gélose glucosée, avec les germes-test, tandis que l'on dépose quelques gouttes d'huile essentielle sur un papier-filtre disposé au fond du couvercle. La boîte étant mise à 37°, couvercle en bas, il se produit une évaporation des substances volatiles, et on lit après 24 heures la croissance des germes ou l'inhibition de la croissance (action infertilisante). Après ablation du papier-filtre, on observe encore pendant 6 jours l'apparition éventuelle d'une pousse retardée, et on obtient ainsi le pouvoir bactéricide.

L. Joubert, dans la thèse de Dancer, utilise les microatmosphères en boîte de Pétri, sur milieu : eau peptonée gélosée à 15 pour 1 000 ; glucosée à 2 pour 1 000 coulé sur une épaisseur de 3 mm, ensemencé à la pipette Pasteur calibrée, avec étalement au rateau de verre.

Il utilise 4 gouttes d'essence (pipette calibrée) et étudie la bactériostase transitoire et le pouvoir bactéricide définitif (48 heures après ablation du papier-filtre).

Le pouvoir bactériostatique est noté par la réduction du nombre des colonies.

Le pouvoir bactéricide s'est montré plus *désinfectant* qu'*antiseptique*, c'est-à-dire plus actif sur les germes pathogènes que sur les saprophytes.

Le pouvoir sporicide est nul.

Enfin, l'aspect qualitatif des colonies varie, tendant vers la forme R ou SR. La virulence est atténuée.

3° Etude en atmosphère de faible volume.

Kellner et Kober ont utilisé un mode opératoire original, permettant une répartition homogène du produit dans l'atmosphère.

L'air est aspiré dans une « hotte » de 3 $m^3$, au travers d'un support imbibé de l'essence à tester, jusqu'à saturation de l'air avec la substance vaporisée. Les microbes-tests, placés sur des supports de verre, sont soumis aux vapeurs d'essence à une température de 20° et une humidité relative de 60 %.

Joubert à l'école vétérinaire de Lyon utilise des caissons confinés de faible volume (12 litres environ), avec orifice d'admission soit pour les germes, soit pour les antiseptiques.

Le prélèvement des germes avant ou après la désinfection se fait par sédimentation en boîtes de Pétri.

Joubert utilise cette méthode pour apprécier les actions relatives des différents types de nébulisation de produits désinfectants.

Fabre avait utilisé des enceintes de quelques mètres-cube pour faire des essais de désinfection après *nébulisation d'agents microbiens*.

Or, il s'est révélé que l'utilisation de ces « aérosols microbiens » gênait considérablement l'étude de l'action antibactérienne du produit. En effet, il se produit, en l'absence de tout désinfectant, une sédimentation spontanée et rapide des gouttelettes bactériennes, si bien qu'en une heure il persistait dans l'air moins de 1/10 des germes pulvérisés. De plus cette sédimentation n'est pas constante et varie avec de nombreux facteurs extérieurs (température, humidité, ensoleillement, etc.)

Pour obvier à cet inconvénient, J. Desbordes et B. Le Bourdelles à la suite des travaux de Jude et Colobert, préconisent un procédé nouveau pour l'étude des aérosols antiseptiques en atmosphère expérimentalement polluée. Ils utilisent deux caissons dont l'un servira de témoin et l'autre aura reçu des aérosols d'antiseptique, le prélèvement des germes se faisant soit par sédimentation en boîtes

de Pétri, soit par membranes filtrantes. L'intérêt de cette méthode vient de la rigueur des conditions expérimentales, celles-ci étant absolument équivalentes dans les deux caissons, la seule variable étant la nature et la concentration de l'antiseptique.

4° Etude du pouvoir antiseptique dans l'atmosphère normale des pièces d'habitation (ainsi que laboratoires, salles d'hospitalisés, etc.)

Nous décrirons la technique officielle de Fabre, Cruveilhier et Mme Magnier de la Source.

Alors que dans la désinfection dite « terminale » il faut réaliser une stérilisation totale, dans les méthodes de désinfection « continues » « permanentes » où l'on est en présence d'individus pouvant se mouvoir librement dans la pièce traitée, y entrer ou en sortir, sans étanchéité des ouvertures, il suffira d'obtenir une diminution valable du nombre des germes.

Deux techniques sont utilisées :

— Sédimentation en boîte de Pétri ;
— Barbotage d'air en liquide stérile.

a) *Evaluation du nombre des germes vivants, se déposant pendant un temps x, sur la surface S d'une boîte de Pétri ouverte, renfermant un milieu nutritif, par détermination du nombre des colonies développées après culture.*

Le milieu utilisé est la gélose nutritive :

| | |
|---|---|
| Viande hachée | 500 g |
| Cl Na | 5 g |
| Peptone | 20 g |
| Gélose | 15 g |
| Eau potable exempte d'antiseptique q.s.p. | 1 000 ml. |

Ce milieu riche est nécessaire à la pousse des germes ayant résisté aux antiseptiques, et pouvant avoir été ainsi fragilisés.

— Deux boîtes de Pétri ouvertes sont placées

- côte à côte sur le sol
- » » à 1,5 m du sol
- » » à 2,5 m du sol
- » » à 0,5 m du plafond (si plafond haut).

— Durée d'exposition de 15 minutes, débutant aux temps suivants :

- Une heure avant l'essai

- 30 minutes avant l'essai
- Immédiatement à la fin de l'opération (0 minute) ;
- 30 minutes après la fin de l'opération
- Une heure » » »
- 1 h 30 mn » » »
- 2 h 30 mn » » »
- 3 h 45 mn » » »

Il y a donc en tout 8 expositions de 6 boîtes (mais le contrôle peut être poursuivi plus longtemps).

— Les boîtes sont refermées après 15 minutes d'exposition, puis placées à l'étuve à 37°, couvercle en bas, pendant 3 jours, puis jusqu'au 11e jour à la température du laboratoire.

— Les colonies sont comptées tous les jours.

— On effectue une comparaison entre les boîtes exposées avant et après l'essai de désinfection du local, et l'on calcule :

- Le pourcentage de germes détruits ;
- La rapidité d'action du désinfectant ;
- La durée d'efficacité de l'action.

— On peut rechercher qualitativement les germes résistants.

— De plus on a constaté que les colonies sont plus nombreuses après les expositions de jour, qu'après les expositions de nuit, que les étages d'exposition sont équivalents la nuit, tandis que le jour les boîtes situées aux emplacements élevés sont plus riches en colonies que les boîtes au sol.

b) *Numération des germes vivants par barbotage d'air dans un liquide stérilisé, fractionnement de ce liquide en milieux de subculture et, soit numération des tubes de subculture à culture positive, si les milieux sont liquides, soit numération des colonies développées si les milieux de subculture utilisés sont solides.*

— Barbotage rapide de 20 litres d'air dans un liquide stérile (70 ml d'eau distillée à pH 7,2) contenu dans un récipient étroit et haut muni d'un bouchon rodé à 2 tubulures : l'une en relation avec l'air à analyser, l'autre avec un système de vase de Mariotte (le tout préalablement stérilisé). Le prélèvement se fait en 10 à 12 minutes.

— Fractionnement du liquide de barbotage en milieux de subculture stériles permettant une numération des germes.

Le contenu du flacon barboteur est fractionné et mis en milieux de subculture liquides ou solides.

*Milieux liquides de subculture :*

Après de longs mois d'essais, cette technique a été abandonnée par les expérimentateurs car nécessitant de procéder à des ensemencements de très faibles doses du milieu de barbotage, donc d'utiliser un matériel considérable, de réaliser des opérations parfois fort longues et demeurant entachées d'erreurs inévitables car plusieurs germes ensemencés dans un seul tube ne peuvent jamais être comptés que pour un seul.

*Milieux solides de subculture :*

Le milieu utilisé est la gélose nutritive à base de bouillon de viande peptoné, contenant 20 g de gélose sèche par litre, car appelée à être diluée d'un tiers par les ensemencements.

Les 70 ml de liquide de barbotage sont répartis de la façon suivante en 16 boîtes de Pétri renfermant préalablement de la gélose nutritive, maintenue, pour les ensemencements, à 40° :

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 8 | boîtes | reçoivent | 7 ml | du liquide | de | barbotage | soit au total 56 ml ; |
| 2 | » | » | 2,5 ml | » | » | » | » 5 ml ; |
| 2 | » | » | 2 ml | » | » | » | » 4 ml ; |
| 2 | » | » | 1,5 ml | » | » | » | » 3 ml ; |
| 2 | » | » | 1 ml | » | » | » | » 2 ml. |

(Les 8 premières boîtes renfermaient 16 ml de gélose, et les 8 autres, 12 ml).

Après homogénéisation, on refroidit pour solidifier la gélose, et les boîtes sont placées à l'étuve à 37°.

Le nombre des colonies apparues est noté tous les jours pendant trois jours, en comparant avec les résultats obtenus avec les prélèvements faits avant essai de désinfection, pour déceler un retard éventuel dans le développement des germes.

Puis les colonies sont dénombrées encore pendant huit jours à la température du laboratoire.

Les auteurs notent que les 8 boîtes contenant les prélèvements de 1 à 2,5 ml sont des tests précieux :

— Au cas où les colonies sont incomptables sur les boîtes à large ensemencement ;

— Ou au contraire, au cas où ces dernières restent stériles par entraînement d'une quantité non négligeable du produit (pouvoir infertilisant).

*Interprétation des résultats :*

L'addition du nombre de toutes les colonies développées donne le nombre de germes dans 20 litres d'air. (Il est admis qu'une colonie représente un germe ensemencé).

*Nombre de prélèvements à effectuer par barbotage :*

Tous les prélèvements durent de 10 à 12 mitutes.

— Un prélèvement témoin débutant 60 minutes avant l'essai
— Un prélèvement débutant 30 minutes après l'essai
— Un prélèvement débutant 3 h 45 mn après l'essai.

Tout ceci nécessite donc 48 boîtes de Pétri.

On peut à la demande, effectuer des prélèvements ultérieurs, au cas où la durée d'efficacité serait supérieure à 4 heures.

Les prélèvements par barbotage ont lieu au centre géométrique de la pièce si celle-ci n'excède par 100 $m^3$. Sinon, le local traité est divisé en 2 locaux théoriques de même volume et 2 prélèvements d'air sont alors effectués.

*Résultats :*

On compare les résultats obtenus par les deux méthodes appliquées en même temps :

— Sédimentation en boîtes de Pétri,
— Barbotage de 20 l d'air en eau distillée stérile,

et on effectue le rapport entre les moyennes des chiffres obtenus après et avant l'essai de désinfection.

*Normes officielles d'efficacité :*

Une séance de désinfection « continue » doit produire une réduction de 75 à 80 % des germes normaux de l'atmosphère. (Annales d'hygiène publique, industrielle et sociale, décembre 1950, nº 6, p. 250.)

5º Autres procédés :

— *Filtration.*

Les expérimentateurs du Laboratoire National de la Santé Publique d'une part, et ceux du Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris d'autre part, ont essayé à plusieurs reprises d'effectuer des filtrations de volumes d'air déterminés, sur des matériaux variables :

Bourres solubles : lactose ou glucose stérilisé ; sulfate de soude stérilisé.

Fabre révèle à leur encontre des inconvénients : filtres infidèles, donnant des résultats entachés d'erreur par défaut.

Utilisation d'un papier filtre spécial (type *Milliporte filter* ou papier à charge d'amiante), stérilisé, encastré entre deux cônes reliés entre eux par vissage. Le papier filtre est ensuite reporté sur la gélose d'une boîte de Pétri.

Fabre signale également ici des inconvénients : défaut d'étanchéité du pas de vis, laissant passer de l'air échappant à la filtration ; le papier filtre retient non seulement les germes, mais aussi les substances désinfectantes, ce qui inhibe ensuite la pousse des germes en boîte de Pétri (action infertilisante) et permettrait à tort de croire à l'efficacité absolue du produit testé.

— *Technique des fils.*

— J. G. Marchal et Th. Girard proposent une méthode originale de mesure du pouvoir antiseptique des substances dans l'atmosphère :

Des brins de coton de 10 cm sont imbibés dans des suspensions de cultures jeunes de différentes espèces, et suspendus à de petites potences en des points variés du local, tandis que des fils témoins sont conservés sous cloche de verre où l'on a maintenu un certain degré d'humidité.

Après dispersion du produit antiseptique dans l'air chaque groupe de 3 fils est plongé dans un Erlenmeyer contenant 10 ml d'eau physiologique stérile, et des billes de verre et soumis à l'agitation.

Le liquide obtenu est soumis à la technique d'isolement de Koch et ensemencé sur boîtes de Pétri. Après incubation de 5 jours à 31°, on procède à la numération des colonies.

Il est donc possible de comparer le nombre des colonies obtenues après action du désinfectant et le nombre de colonies obtenues en opérant sur les fils témoins.

Les auteurs déterminent ainsi :

— Le pourcentage de germes détruits par le désinfectant ;
— La rapidité d'action de la substance utilisée ;
— La durée de son efficacité ;
— La résistance des spores des bactéries et des moisissures.

Il est possible de comparer les résultats obtenus par la technique des fils et ceux obtenus par simple exposition de boîtes de Pétri.

L'avantage de la technique des fils est d'opérer sur des germes connus, et d'éliminer les causes d'erreurs dues à la variation dans la répartition des germes de l'air des locaux sans ou après pollution préalable.

On voit donc, comme nous le disions plus haut, à quelle variété de méthodes l'ingéniosité des auteurs a abouti pour tourner l'écueil technique de l'insolubilité dans l'eau des huiles et la difficulté d'apprécier leur efficacité en phase gazeuse.

La diversité des produits, l'imprécision quant aux conditions expérimentales (souches, milieux de culture, présence de sucres, de protéines, de facteurs d'inhibition, emploi de solvants, température d'étude, état de solubilité, etc.) rendent la comparaison pratiquement impossible entre les travaux des différents auteurs, sauf évidemment dans le cas où ils ont suivi scrupuleusement la technique officielle.

C'est pourquoi nous voulons proposer plus loin un essai de codification en étudiant le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles dans des conditions expérimentales nettement définies.

Mais, auparavant, il est un problème qui nous paraît devoir être évoqué : c'est celui de l'innocuité des produits utilisés pour la désinfection de l'atmosphère.

## Essai d'innocuité des désinfectants

Il est évident qu'on ne saurait avoir trop d'exigence sur l'innocuité des produits utilisés pour la désinfection des atmosphères, surtout lorsqu'elle est réalisée en « continu » c'est-à-dire en présence d'êtres humains ou d'animaux. L'étude de l'innocuité doit prévaloir sur l'étude de l'action antibactérienne.

En effet ces produits sont destinés à être tout spécialement mis en œuvre, en médecine humaine, dans des collectivités d'enfants, dans des salles de malades respiratoires (tuberculeux, bronchitiques, asthmatiques) dont les muqueuses sont spécialement fragiles.

C'est pourquoi il nous semblerait utile d'adjoindre à l'essai officiel actuel une étude poussée de la tolérance locale de ces produits par les muqueuses nasale, pharyngée et trachéo-bronchique ainsi que par la muqueuse oculaire qui, toutes sont très sensibles à certains composants chimiques (phénoliques en particulier) des essences.

Il ne serait pas non plus dénué d'intérêt de chercher à étudier également un éventuel pouvoir allergisant des essences et les réactions secondaires qu'elles peuvent entraîner au niveau du tractus respiratoire.

— Les études chez l'animal pourraient bénéficier de méthodes histologiques. Les pouvoirs bronchodilatateur et bronchosécréteur ont été analysés par Joubert.

Non seulement les antiseptiques doivent être inoffensifs et non irritants, mais aussi leur solvant, c'est ainsi que l'on doit prohiber l'utilisation du kérosène. D'autre part, l'appareil doit être réglé de façon précise pour assurer une homogénéité parfaite et éviter des concentrations locales trop élevées de certains composants.

La valeur basse du pH de certains produits n'a entraîné aucune modification humorale importante chez les animaux.

L'auteur a étudié l'action physiologique de produits désinfectants sur le poumon de lapin afin d'apprécier le pouvoir :

— bronchodilatateur
— eupnéisant
— balsamique
— bronchosécréteur.

Il vaporise en atmosphère confinée, ou directement dans la trachée de l'animal divers mélanges, et enregistre le tonus bronchique, en même temps qu'il pratique un tracé électrocardiographique.

Certains produits se sont montrés bronchostricteurs, d'autres bronchodilatateurs, sans propriétés coronarodilatatrices.

Au point de vue de la sécrétion bronchique, les mélanges ne doivent ni dessécher l'épithélium, ni paralyser les cils vibratiles, ni provoquer une trop violente sécrétion entraînant une véritable « noyade pulmonaire ».

Une action modérée peut jouer un rôle thérapeutique en favorisant l'expectoration.

Nous voulons cependant insister tout spécialement ici sur le haut intérêt des méthodes officielles qui très tôt se sont penchées sur le problème de la toxicité générale et ont soulevé le problème d'une influence éventuelle sur la croissance et sur la descendance.

— Fabre et coll. de même que Marchal et Girard utilisent en effet la détermination des courbes de poids de jeunes animaux de laboratoire, après étude préalable de la formule au point de vue toxicologique.

Ils préconisent des essais de désinfection bi-quotidiens pendant un ou deux mois, en présence d'animaux de laboratoire, en utilisant des doses supérieures aux doses proposées pour la désinfection en milieu humain.

Les animaux, lapins, cobayes, rats et souris, sont examinés et pesés deux fois par semaine et, éventuellement, autopsiés à la fin des essais avec coupes histologiques de foie, de rate, et de rein. On soumet à ces pulvérisations des lapines gravides pour suivre l'action sur la gestation, la mise bas, et la courbe de poids des lapins nouveau-nés, qui, par leur sensibilité, sont un matériel de choix pour l'étude de l'innocuité d'un aérosol.

L'expérimentation enregistrera les courbes de poids des cobayes adultes et des lapins et cobayes nouveau-nés.

On conçoit l'importance théorique et pratique de tels essais dirigés essentiellement vers le dépistage d'une éventuelle action cancérigène, car il ne faut pas perdre de vue que les huiles essentielles sont des produits de distillation et que l'on a récemment évoqué le pouvoir cancérigène de certains hydrocarbures des huiles essentielles de pin.

Si on peut admettre sans trop d'exigences l'emploi passager de certaines huiles à titre de désodorisant, telle que s'en dessine actuellement la tendance, la situation est différente en ce qui concerne des huiles utilisées pour une désinfection continue et il semble que le Laboratoire National de la Santé Publique ne puisse délivrer d'autorisation pour de tels produits en l'absence de normes rigoureuses d'innocuité.

Mais, sous la réserve de cette vérification de l'innocuité sur laquelle nous nous sommes permis d'insister, il est bien évident que le choix d'une huile essentielle comme désinfectant repose avant tout sur une étude approfondie de son efficacité antimicrobienne, et nous nous proposons de l'envisager maintenant.

IV

# ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DU POUVOIR ANTIBACTÉRIEN DE CINQUANTE QUATRE HUILES ESSENTIELLES

En apportant quelques modifications personnelles aux méthodes qui, parmi celles que nous avons passées en revue dans le chapitre précédent, nous ont paru les mieux codifiées, nous avons étudié systématiquement l'activité bactériostatique et bactéricide de cinquante quatre huiles essentielles (ou corps aromatiques apparentés) vis-à-vis de six germes tests en utilisant trois techniques nous ayant permis d'évaluer cette activité en phase liquide et phase gazeuse.

Nous envisagerons successivement le matériel expérimenté, les germes tests et le détail des méthodes utilisées de façon à donner des précisions rigoureuses sur nos conditions expérimentales.

## I. - Matériel étudié

Nous avons exclusivement retenu pour notre étude des huiles essentielles naturelles.

Toutefois connaissant l'extrême variabilité organoleptique et chimique de ces produits végétaux, nous avons pensé que la simple désignation de l'origine botanique était une caractéristique très insuffisante, contrairement à la plupart des auteurs qui s'en satisfont généralement.

En effet, à l'intérieur même d'une seule famille botanique, la composition et les propriétés physiochimiques des huiles essentielles diffèrent notablement sous l'influence de nombreux facteurs tenant aux conditions de culture et de récolte : origine géographique, qualité du terrain, ensoleillement, hygrométrie, moment de la récolte, soins apportés aux traitements agricoles ou industriels, etc.

C'est pourquoi nous avons exigé des huiles essentielles que nous avons expérimentées qu'elles soient conformes aux normes établies par la Commission de Normalisation du Syndicat des Fabricants et Importateurs d'Huiles essentielles et Produits aromatiques naturels de Grasse (1).

Ces essences ont été obtenues par des techniques bien codifiées, scrupuleusement suivies par le fournisseur hautement qualifié et consciencieux auquel nous nous sommes adressé.

Ces techniques se répartissent en :

— Expression à froid des fruits pour toutes les essences des divers agrumes ;

— Distillation des rameaux ou du bois pour les essences de Santal Mysore et Cyprès ;

— Distillation fractionnée à la vapeur d'eau pour l'essence d'Ylang-Ylang ;

— Distillation à la vapeur d'eau des parties les plus riches de la plante, pour toutes les autres essences.

Nous avons rejeté de notre étude les essences artificielles synthétiques car nous avons voulu saisir l'activité des essences dans toute la complexité de leurs composants naturels dont certains, présents seulement à l'état de traces, échappent à l'analyse mais nous paraissent cependant avoir une haute importance.

De plus, nous avons voulu étudier les produits tels qu'ils sont utilisés en pratique actuellement dans certains domaines, particulièrement en alimentation où la forme naturelle est, pour son arôme beaucoup plus délicat, toujours préférée à la forme synthétique.

Toutefois nous avons étudié parallèlement :

— D'une part certaines substances entrant dans la composition des essences : alcools, aldéhydes, terpènes etc. ;

— Dautre part, des substances bactéricides ou bactériostatiques à pouvoir antibactérien connu à savoir :

Des antiseptiques (phénol, formol),

Des antibiotiques (Bacitracine, Carbomycine, Chloramphénicol, Chlortétracycline, Colimycine, Ery-

(1) Nous remercions les Etablissements Roure & Bertrand Fils (Grasse) pour l'aimable fourniture de 52 huiles essentielles dont la pureté a été vérifiée par leur Chef de Laboratoire Monsieur Bernard auquel nous tenons à exprimer notre gratitude.

Nous remercions également Messieurs Prevet et Reusse qui ont eu l'obligeance de mettre à notre disposition deux variétés d'essence de niaouli d'importation, garanties d'origine.

thromycine, Framycetine, Furadoïne, Kanamycine, Néomycine, Novobiocine, Oléandomycine, Pénicilline, Polymyxine, Spiramycine, Streptomycine, Tétracycline et quatre Sulfamides,).

Les essences et produits aromatiques étudiés sont répertoriés ci-après.

Ces essences et composés ont toujours été utilisés purs.

Cependant de façon à pouvoir juger de l'action éventuelle d'un solvant, nous avons réalisé quelques essais avec des dilutions d'essences dans partie égale d'alcool isopropylique pur qui a déjà été beaucoup étudié et représente en fait un solvant très usité pour les huiles essentielles.

En ce qui concerne les antiseptiques de référence phénol et formol, nous avons utilisé :

— Le phénol aqueux (Codex p. 565)

Phénol officinal..... 100 g
Eau distillée..... 10 g

— Le soluté officinal de formaldehyde (Codex p. 840) qui renferme 35 pour cent d'aldehyde formique.

En ce qui concerne les antibiotiques, les sulfamidés et la furadoïne, ils ont été utilisés sous la forme de disques imprégnés (disques pour antibiogramme de l'Institut Pasteur).

# NOMENCLATURE ET DÉFINITION DES ESSENCES ET COMPOSÉS AROMATIQUES EXPÉRIMENTÉS

## Huiles essentielles

1) *ESSENCE D'AMANDES AMÈRES*
(diverses amygdalées)

Aspect : liquide
Couleur : incolore à jaune pâle
Odeur : caractéristique, puissante

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 1{,}041$ à $1{,}066$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}5320$ à $1{,}5440$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = 0^{o}$ à $+ 0{,}10^{o}$

*d*) Solubilité : soluble dans 1 à 2 volumes d'alcool à 70°
— — 2,5 — — 60°

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) Aldéhydes % (en aldéhyde benzoïque) $\geqslant 80$

*b*) Qualité exempte d'acide cyanhydrique

*c*) Exempt de chlore

2) *ESSENCE DE BADIANE*
(*Illicium verum* Hooker)

Aspect : liquide cristallisant par abaissement de la température
Couleur : jaune pâle à jaune ambré
Odeur : aromatique, anisée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 0{,}979$ à $0{,}987$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}5525$ à $1{,}5560$

*c*) Point de congélation : $\geqslant 15^{o}$

CONSTANTES CHIMIQUES

Anethol = 85 à 90 pour cent

3) *ESSENCE DE BERGAMOTE*
(*Citrus aurantium* L.)

Aspect : liquide avec parfois un dépôt solide
Couleur : jaune verdâtre à vert
Odeur : agréable, fraîche, fruitée, éthérée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 0{,}875$ à $0{,}883$ (excep$^{t}$ $0{,}885$)

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}4640$ à $1{,}4680$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = +\ 4^{o}$ à $+\ 28^{o}$ (excep$^{t}$ $+\ 30^{o}$)

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) I.A. : inférieur à 3,5

*b*) I.E. : 85,7 à 128,5

*c*) esters % (en acétate de linalyle )= 30 à 45 (excep$^{t}$ 46)

4) *ESSENCE BOIS DE ROSE BRÉSIL*
(*Aniba rosaeodora* var. *amazonica* Ducke)

Aspect : liquide
Couleur : incolore à jaune pâle
Odeur : caractéristique, légèrement boisée, douce

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 0{,}871$ à $0{,}888$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}4620$ à $1{,}4685$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = -2^{o}$ à $+5^{o}$

*d*) Solubilité : soluble dans 3 à 5 volumes d'alcool à 60°

CONSTANTES CHIMIQUES

Alcools % (en linalol) : 84 à 93

5) *ESSENCE DE CAMOMILLE ROMAINE*
(*Anthemis nobilis* L.)

Aspect : liquide
Couleur : jaune pâle à jaune verdâtre avec parfois teinte bleutée
Odeur : caractéristique, éthérée, fruitée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 0{,}896$ à $0{,}917$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}4380$ à $1{,}4570$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = -1^{o}$ à $+4^{o}$

*d*) Solubilité : soluble dans 1 à 2 volumes d'alcool à 80°

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) I.A. : 14

*b*) I.E. : 205 à 300

6) *ESSENCE DE CAMOMILLE BLEUE OU DE MATRICAIRE*
(*Matricaria camomilla* L.)

Aspect : liquide plus ou moins visqueux suivant la température
Couleur : bleu foncé
Odeur : caractéristique, grasse, aromatique

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 0{,}913$ à $0{,}953$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} =$ illisible

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} =$ illisible

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) I.A. : 5 à 50

*b*) I.E. : 3 à 39

*c*) I.E. après acétylation = 66 à 155

7) *ESSENCE DE CAMPHRE*
(*Cinnamomum camphora* L.)

8) *ESSENCE CANNELLE CEYLAN*
(*Cinnamomum zeylanicum* Nees)

Aspect : liquide
Couleur : brun rouge foncé
Odeur : épicée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 1{,}019$ à $1{,}036$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} = 1{,}5810$ à $1{,}5910$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} =$ faiblement lévogyre, jusqu'à — 1°, rarement supérieur

*d*) Solubilité : soluble dans 2 à 3 volumes et plus d'alcool à 70°

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) Aldéhydes % (en aldéhyde cinnamique) : 65 à 76

*b*) Phénols % (en eugénol) : 4 à 10

9) *ESSENCE CANNELLE DE CHINE*
(*Cinnamomum cassia* Nees)

Aspect : liquide
Couleur : brun foncé à noir
Odeur : épicée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 1{,}046$ à $1{,}071$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} = 1{,}6000$ à $1{,}6100$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} = -1^{o}$ à $+6^{o}$

CONSTANTES CHIMIQUES

Aldéhydes % (en aldéhyde cinnamique) : 70 à 90

10) *ESSENCE DE CÈDRE DE L'ATLAS*
(*Cedrus atlantica* Manetti)

Aspect : liquide
Couleur : jaune pâle à brun
Odeur : boisée, caractéristique, légèrement empyreumatique

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 0{,}929$ à $0{,}945$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} = 1{,}5090$ à $1{,}5170$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} = +43^{o}$ à $+74^{o}$ (excep$^{t}$ $+35^{o}$)

11) *ESSENCE DE CISTE*
(*Cistus ladaniferus* L.)

Aspect : liquide
Couleur : jaune à brun
Odeur : balsamique, ambrée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 0{,}914$ à $0{,}976$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}4820$ à $1{,}5060$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = -\ 8^{o}$ à $+\ 2{,}30^{o}$

12) *ESSENCE DE CITRON D'AFRIQUE OCCIDENTALE FRANÇAISE*
(*Citrus limon* L.)

Aspect : liquide, avec parfois un dépôt solide
Couleur : jaune verdâtre à vert
Odeur : caractéristique du fruit

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 0{,}849$ à $0{,}855$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}4730$ à $1{,}4762$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = +\ 59^{o}$ à $+\ 70^{o}, 20$

CONSTANTES CHIMIQUES

Aldéhydes % (en citral) : 2,2 à 4,2

13) *ESSENCE DE CITRON DE CALIFORNIE*
(*Citrus limon* L.)

Aspect : liquide, avec parfois un dépôt solide
Couleur : jaune
Odeur : caractéristique du fruit

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 0{,}851$ à $0{,}859$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}4738$ à $1{,}4755$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = +\ 52^{o}$ à $+\ 65^{o}$

CONSTANTES CHIMIQUES

Aldéhydes % (en citral) : 2 à 3,7

14) *ESSENCE DE CITRON D'ITALIE*
(*Citrus limon* L.)

Aspect : liquide, avec parfois un dépôt solide
Couleur : jaune pâle à jaune verdâtre
Odeur : caractéristique du fruit

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 0{,}851$ à $0{,}855$ (excep$^{t}$ $0{,}856$)

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} = 1{,}4740$ à $1{,}4760$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} = +\ 57^{o}$ à $+\ 68^{o}$

CONSTANTES CHIMIQUES

Aldéhydes % (en citral) : 3,5 à 5

15) *ESSENCE DE CYPRÈS*
(*Cupressus* divers)

Aspect : liquide
Couleur : jaune pâle à jaune verdâtre
Odeur : térébenthinée, agreste, boisée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 0{,}865$ à $0{,}882$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} = 1{,}4700$ à $1{,}4760$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} = +\ 20^{o}$ à $+\ 30^{o}$

16) *ESSENCE D'EUCALYPTUS GLOBULUS*
(*Eucalyptus globulus* Lab.)

Aspect : liquide
Couleur : jaunâtre
Odeur : forte, pénétrante, camphrée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\,\frac{20}{20} = 0{,}906$ à $0{,}923$

*b*) Indice de réfraction : $n\,\frac{20}{D} = 1{,}4590$ à $1{,}4650$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\,\frac{20}{D} = 0^{o}$ à $+\ 10^{o}$

CONSTANTES CHIMIQUES

Cinéol % : 67 à 87

17) *ESSENCE DE FENOUIL AMER*
(*Foeniculum vulgare* Miller)

Aspect : liquide
Couleur : jaune pâle
Odeur : aromatique, épicée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\,\frac{20}{20} = 0{,}889$ à $0{,}921$

*b*) Indice de réfraction : $n\,\frac{20}{D} = 1{,}4840$ à $1{,}5080$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\,\frac{20}{D} = +\ 20^{o}$ à $+\ 68^{o}$

*d*) Point de congélation : Incongélable à $-\ 10^{o}$

18) *ESSENCE DE GENIÈVRE*
(*Juniperus communis* L.)

Aspect : liquide
Couleur : jaune pâle
Odeur : agreste, balsamique

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\,\frac{20}{20} = 0{,}859$ à $0{,}879$

*b*) Indice de réfraction : $n\,\frac{20}{D} = 1{,}4705$ à $1{,}4830$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha \frac{20}{D} = -5^{o}$ à $-13{,}60^{o}$

19) *ESSENCE DE GÉRANIUM D'ALGÉRIE*
(*Pelargonium roseum* Willd)

Aspect : liquide
Couleur : jaune ambré pâle à jaune verdâtre
Odeur : rosée, herbacée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d \frac{20}{20} = 0{,}886$ à $0{,}900$

*b*) Indice de réfraction : $n \frac{20}{D} = 1{,}4630$ à $1{,}4720$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha \frac{20}{D} = -8^{o}$ à $-12^{o}$

*d*) Solubilité : généralement soluble

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) I.A. : 1,4 à 9,5

*b*) I.E. : 31 à 74

*c*) Rhodinol % : 33 à 47

*d*) Alcools totaux % (en géraniol) : 60 à 75

20) *ESSENCE DE GÉRANIUM BOURBON*
(*Pelargonium roseum* Willd)

Aspect : liquide
Couleur : jaune ambré à vert jaunâtre
Odeur : rosée, légèrement menthée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d \frac{20}{20} = 0{,}884$ à $0{,}893$

*b*) Indice de réfraction : $n \frac{20}{D} = 1{,}4620$ à $1{,}4680$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha \frac{20}{D} = -8^{o}$ à $-14^{o}$ (except$^{t}$ $-6{,}60^{o}$ à $-16^{o}$)

*d*) Solubilité : Alcool à 70° : généralement 2 à 4 vol.
Alcool à 68° : 2 à 4 vol. quelquefois avec louche

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) I.A. : $\leqslant 7$

*b*) I.E. : 50 à 78

*c*) Rhodinol % : 41 à 54

*d*) Alcools totaux % (en géraniol) : 65 à 76

21) *ESSENCE DE GIROFLE CLOUS*
(*Eugenia caryophillata* Thunb. = *Caryophyllus aromaticus* L.)

Aspect : liquide
Couleur : jaune clair à brun foncé
Odeur : aromatique, épicée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20}$ = 1,044 à 1,061

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D}$ = 1,5300 à 1,5380

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D}$ = — 1° à + 1°

CONSTANTES CHIMIQUES

Phénols % : 85 à 98

22) *ESSENCE DE GIROFLE FEUILLES*
(*Eugenia caryophyllata* Thumb. = *Caryophyllus aromaticus* L.)

Aspect : liquide
Couleur : brun foncé à noir
Odeur : aromatique, épicée

CONSTANTES PHYSIQUES

a) Densité : $d\ {}^{20}_{20}$ = 1,036 à 1,050

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D}$ = 1,5290 à 1,5350

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha \frac{20}{D}$ = essence colorée, pouvoir rotatoire souvent illisible, voisin de 0°, légèrement négatif

CONSTANTES CHIMIQUES

Phénols % : qualité normale : 82 à 90

23) *ESSENCE DE LAVANDE FRANÇAISE*
(*Lavandula officinalis* var. *delphinensis*)

Aspect : liquide
Couleur : jaune ambré, pâle
Odeur : agreste, éthérée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d \frac{20}{20}$ = 0,876 à 0,892 (excep$^t$ 0,893)

*b*) Indice de réfraction : $n \frac{20}{D}$ = 1,4570 à 1,4640

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha \frac{20}{D}$ = — 3° à — 11°

*d*) Solubilité : Un volume d'essence dans, au plus 5 vol. d'alcool à 70$^c$ et plus

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) I.A. : $\leqslant$ 0,8

*b*) Esters % (en acétate de linalyle) : 35 à 55

24) *ESSENCE DE LAVANDIN*
(*Lavandula fragans* X *latifolia* Chatenier)

Aspect : liquide
Couleur : jaune ambré, pâle
Odeur : lavandée, grossière, camphrée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d \frac{20}{20}$ = 0,885 à 0,896 (excep$^t$ 0,900)

*b*) Indice de réfraction : $n \frac{20}{D}$ = 1,4580 à 1,4660

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha \frac{20}{D} = -1^{o}$ à $-7^{o}$

*d*) Solubilité : soluble au maximum dans 4 vol. et plus d'alcool à 70° le plus souvent soluble dans 5 vol. et plus d'alcool à 65°

CONSTANTES CHIMIQUES

Esters % (en acétate de linalyle) : 16 à 35

25) *ESSENCE DE LEMONGRASS*
(*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf et *Cymbopogon flexuosus* (D.C.)

Aspect : liquide
Couleur : jaune pâle à brun foncé
Odeur : Citronnée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d \frac{20}{20} = 0{,}879$ à $0{,}901$

*b*) Indice de réfraction : $n \frac{20}{D} = 1{,}4855$ à $1{,}4900$

CONSTANTES CHIMIQUES

Aldéhydes % (en citral) : 75 à 85 (excep$^{t}$ 70)

26) *ESSENCE DE MENTHE POIVRÉE D'AMÉRIQUE*
(*Mentha piperita* var. *vulgaris* L.)

Aspect : liquide
Couleur : incolore à jaune pâle
Odeur : forte, caractéristique

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d \frac{20}{20} = 0{,}903$ à $0{,}911$

*b*) Indice de réfraction : $n \frac{20}{D} = 1{,}4598$ à $1{,}4640$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha \frac{20}{D} = 19{,}50^{o}$ à $-28{,}15^{o}$

*d*) Solubilité : soluble dans 2,5 à 3,5 vol. d'alcool à 70°, quelquefois opalescence ou trouble

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) Alcools totaux % (en menthol) : 45,6 à 65,1

*b*) Esters % (en acétate de menthyle) : 3,1 à 9,6

*c*) Cétones % (en menthone) : 14,3 à 30,5

27) *ESSENCE DE MUSCADE*
(*Myristica fragans* Houtt)

Aspect : liquide
Couleur : incolore à jaune pâle
Odeur : grasse, épicée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 0{,}866$ à $0{,}929$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} = 1{,}4750$ à $1{,}4900$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} = +\ 9^{o}$ à $+\ 41^{o}$

28) *ESSENCE DE NIAOULI*
(*Melaleuca viridiflora* Gaertner)

Aspect : liquide
Couleur : incolore à jaune verdâtre
Odeur : pénétrante, camphrée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 0{,}903$ à $0{,}924$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} = 1{,}4650$ à $1{,}4720$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} =$ voisin de $0^{o}$

*d*) Solubilité : soluble dans 1 à 3 volumes d'alcool à 80°

CONSTANTES CHIMIQUES

Cinéol % : 45 à 65

29) *ESSENCE D'ORANGE DE CALIFORNIE*

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 0{,}846$ à $0{,}852$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} = 1{,}4723$ à $1{,}4742$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} = +\ 94^{o}$ à $+\ 98^{o}25$

CONSTANTES CHIMIQUES

Aldéhydes % (en aldéhyde $C^{10}$) : 1

30) *ESSENCE D'ORANGE DOUCE D'ITALIE*

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 0{,}844$ à $0{,}849$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} = 1{,}473$ à $1{,}475$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} = +\ 95^{o}50$ à $+\ 99^{o}$

CONSTANTES CHIMIQUES

Aldéhydes % (en aldéhyde $C^{10}$) : 1 à 2,7

31) *ESSENCE D'ORANGE GUINÉE*
(*Citrus sinensis* Osbeck)

Aspect : liquide
Couleur : jaune pâle à jaune orange
Odeur : caractéristique du fruit

CONSTANTES PHYSIQUES

a) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 0{,}841$ à $0{,}847$ (excep$^{t}$ 0,848)

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} = 1{,}4720$ à $1{,}4740$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} = +\ 95{,}50^{o}$ à $+\ 99^{o}$

CONSTANTES CHIMIQUES

Aldéhydes % (en aldéhyde décylique ou décanal) : 1,1 à 2,9

32) *ESSENCE DE PALMAROSA*
(*Cymbopogon martini* Stapf var. *motia*)

Aspect : liquide
Couleur : jaune pâle
Odeur : rosée, grasse

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 0{,}882$ à $0{,}896$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}4715$ à $1{,}4780$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = -3^{o}$ à $+3^{o}$

*d*) Solubilité : soluble au maximum dans 2 vol. et plus d'alcool à 70°

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) I.E. : 10 à 70

*b*) Alcools totaux % (en géraniol) : 85 à 94

33) *ESSENCE DE PATCHOULY* (Singapour)
(*Pogostemon patchouly* Pellet)

Aspect : liquide
Couleur : brune
Odeur : boisée, moisie, camphrée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 0{,}954$ à $0{,}976$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}5070$ à $1{,}5120$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = -47^{o}$ à $-61^{o}$

34) *ESSENCE DE PETITGRAIN BIGARADIER PARAGUAY*
(*Citrus* issus de *Citrus aurantium* var. *amara* et de *Citrus sinensis*)

Aspect : liquide
Couleur : jaune pâle à jaune ambré
Odeur : éthérée, agréable

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité . : $d\ {}^{20}_{20} = 0{,}881$ à $0{,}896$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}4600$ à $1{,}4640$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = -\ 3{,}50^{o}$ à $+\ 4^{o}$

*d*) Solubilité : soluble dans 1 à 6 vol. d'alcool à 70° avec souvent opalescence à la dilution.
soluble dans 1 à 2,5 vol. d'alcool à 75° avec quelquefois opalescence à la dilution

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) I.A. : $\leqslant 0{,}7$

*b*) Esters % (en acétate de linalyle) : 39 à 60

35) *ESSENCE DE PIMENT FEUILLES*
(*Pimenta officinalis* Lindley)

Aspect : liquide
Couleur : jaune orangé à rouge brun
Odeur : épicée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 1{,}022$ à $1{,}061$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}5300$ à $1{,}5400$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = 0^{o}$ à $-\ 5^{o}$

CONSTANTES CHIMIQUES

Phénols % : 65 à 96

36) *ESSENCE DE PIN SYLVESTRE*
(*Pinus silvestris* L.)

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 0{,}861$ à $0{,}882$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} = 1{,}474$ à $1{,}480$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} = -2^{o}$ à $+13^{o}$

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) I.A. : < 2,8

*b*) I.E. : 2,8 à 16

*c*) Alcools totaux % (en bornéol) : 3,9 à 7,3

37) *ESSENCE DE SANTAL D'AUSTRALIE*
(*Eucarya spicata* (R. Br.) Sprag. et Summ.)

Aspect : liquide, visqueux
Couleur : jaune ambré
Odeur : boisée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \frac{20}{20} = 0{,}969$ à $0{,}979$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \frac{20}{D} = 1{,}5040$ à $1{,}5090$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \frac{20}{D} = +4{,}36^{o}$ à $-9{,}25^{o}$ (excep$^{t}$ $-15^{o}$ environ, rarement dextrogyre)

*d*) Solubilité : généralement soluble dans 3 à 5 vol. d'alcool à 70$^{c}$, quelquefois opalescence ou trouble au-dessus de 5 vol.

CONSTANTES CHIMIQUES

a) I.A. : 0,8 à 5

*b*) I.E. : 4,7 à 18,7

*c*) I.E. après acétylation : 150 à 207

*d*) Alcools % (en santalol) : 66 à 96

38) *ESSENCE DE SANTAL MYSORE*
(bois de *Santalum album* L.)

Aspect : liquide, visqueux
Couleur : jaune ambré
Odeur : boisée, chaude

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\,{}^{20}_{20} = 0{,}968$ à $0{,}979$

*b*) Indice de réfraction : $n\,{}^{20}_{D} = 1{,}5020$ à $1{,}5090$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\,{}^{20}_{D} = -15^{o}$ à $-22^{o}$

*d*) Solubilité : soluble dans 3 à 5 vol. d'alcool à 70°

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) I.E. : $\leqslant 10$

*b*) Alcools % (en santalol) : $\geqslant 80$

39) *ESSENCE DE SASSAFRAS*
(*Sassafras albidum* Nees, soit *Ocotea cymbazum* H.B.K.)

Aspect : liquide, cristallisant à basse température
Couleur : jaune ambré à brun
Odeur : boisée

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\,{}^{20}_{20} = 1{,}066$ à $1{,}091$

*b*) Indice de réfraction : $n\,{}^{20}_{D} = 1{,}5280$ à $1{,}5360$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\,{}^{20}_{D} = -3^{o}$ à $+4^{o}$

40) *ESSENCE DE SAUGE SCLARÉE DE GRASSE*
(*Salvia sclarea* L.)

Aspect : liquide
Couleur : jaune pâle
Odeur : éthérée, ambrée

Constantes physiques

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 0{,}892$ à $0{,}909$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}4580$ à $1{,}4710$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = -6^{o}$ à $-25^{o}$ (excep$^{t}$ jusqu'à $-36^{o}$)

*d*) Solubilité : En général, les essences fraîchement distillées sont solubles dans moins de 3 volumes d'alcool à 80$^{c}$ et restent limpides à la dilution. Toutefois, après quelques semaines de stockage, la solubilité peut diminuer fortement. On observe alors, très souvent un trouble à la dilution, même dans l'alcool à 90$^{c}$

Constantes chimiques

a) I.A. : 2

*b*) Esters % (en acétate de linalyle) : 40 à 70

Exceptionnellement, on observe des teneurs inférieures atteignant 32 % particulièrement chez des essences distillées à feu nu et des teneurs supérieures atteignant 76 % chez des essences de certains terroirs

## 41) *ESSENCE DE TAGETES DU KENYA*

Constantes physiques

*a*) Densité : $d\ {}^{20}_{20} = 0{,}865$

*b*) Indice de réfraction : $n\ {}^{20}_{D} = 1{,}4841$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ {}^{20}_{D} = +\ 2{,}70^{o}$

Constantes chimiques

*a*) I.A. : 0

*b*) I.E. : 13,5

*c*) Aldéhyde % (en carvone) : 44,6

42) *ESSENCE DE THYM ROUGE*
(*Thymus vulgaris* L.)

Aspect : liquide
Couleur : brun clair à brun rouge
Odeur : aromatique, puissante

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \overset{20}{20} = 0{,}901$ à $0{,}931$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \overset{20}{D} = 1{,}4900$ à $1{,}5000$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \overset{20}{D} = 0^{o}$ à $-\ 4^{o}$ (excep$^{t}$ $-\ 6^{o}$)

*d*) Solubilité : soluble dans 1 à 2 vol. et plus d'alcool à 80$^{c}$ avec souvent opalescence à la dilution

CONSTANTES CHIMIQUES

Phénols % : 20 à 40 (excep$^{t}$ 45)

43) *ESSENCE DE VETYVER BOURBON*
(*Vetyveria zizanioides* Stapf)

Aspect : liquide visqueux
Couleur : jaune brun
Odeur : boisée, chaude

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\ \overset{20}{20} = 0{,}986$ à $1{,}011$

*b*) Indice de réfraction : $n\ \overset{20}{D} = 1{,}5210$ à $1{,}5300$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\ \overset{20}{D} = +\ 14{,}10^{o}$ à $+\ 25^{o}$ (excep$^{t}$ $36^{o}$)

*d*) Solubilité : soluble dans 1 à 2 vol. d'alcool à 80$^{c}$ avec opalescence
soluble dans 1 à 2 vol. d'alcool à 85$^{c}$ excep$^{t}$ avec léger louche

CONSTANTES CHIMIQUES

a) I.A. : 4,5 à 36

*b*) I.E. : (après acétylation) 120 à 145

44) *ESSENCE DE VETYVER JAVA*
(*Vetyveria zizanioides* Stapf.)

Aspect : liquide visqueux
Couleur : jaune brun
Odeur : boisée, chaude

CONSTANTES PHYSIQUES

*a*) Densité : $d\,{}^{20}_{20} = 0{,}985$ à $1{,}022$

*b*) Indice de réfraction : $n\,{}^{20}_{D} = 1{,}5210$ à $1{,}5280$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\,{}^{20}_{D} = +\,17{,}30^{o}$ à $+\,46^{o}$

*d*) Solubilité : En général insoluble dans l'alcool à 80$^{c}$ et à 85$^{c}$
soluble dans 0,5 à 2 vol. d'alcool à 90$^{c}$

CONSTANTES CHIMIQUES

a) I.A. : 10 à 30

*b*) I.E. : 117 à 147

45) *ESSENCE YLANG*
(*Cananga odorata* Hook)

Aspect : liquide
Couleur : jaune pâle
Odeur : fleurie, suave

CONSTANTES PHYSIQUES

a) Densité : $d\,{}^{20}_{20} = 0{,}918$ à $0{,}933$

*b*) Indice de réfraction : $n\,{}^{20}_{D} = 1{,}5057$ à $1{,}5117$

*c*) Pouvoir rotatoire : $\alpha\,{}^{20}_{D} = -\,40^{o}$ à $-\,68^{o}$ (excep$^{t}$ $-\,29^{o}$ à $-\,78^{o}$)

CONSTANTES CHIMIQUES

*a*) I.A. : $\leqslant 2{,}8$

*b*) I.E. : 56 à 89

## Composants aromatiques chimiquement définis

46) *ALDEHYDE CINNAMIQUE*

47) *CARVACROL*

48) *CITRAL DE LEMONGRASS*

49) *CYMENE*

50) *EUGENOL*

51) *ESSENCE DB* MELALEUCA VIRIDIFLORA *(Ets Prevet)*

52) *TERPENES DE CITRON*

53) *TERPENES DE LEMONGRASS*

54) *THYMENE*

# II. - Techniques d'étude

## Les germes tests

Nous avons choisi comme germes tests six germes présentant des caractéristiques bactériologiques différentes et relativement résistants aux antibiotiques et antiseptiques usuels.

Nous avons pu ainsi apprécier l'efficacité antibactérienne des essences sur les cocci Gram +, les bacilles Gram + et Gram — ainsi que sur les spores.

Nous avons spécialement retenu des germes qui représentent des agents fréquemment rencontrés dans l'air et qui, à l'instar du colibacille pour ce qui est de l'hydrologie, reflètent le pouvoir contaminant de l'atmosphère, pour certains en médecine humaine, pour les autres en milieu industriel.

En pratique, nous avons étudié le comportement des germes suivants, tous empruntés à la Collection de types bactériens de l'Institut Pasteur de Lyon : (1)

Cocci Gram +

*Micrococcus pyogenes* var. *aureus* 101 IPL (staphylocoque doré)

*Streptococcus faecalis* groupe D 9 IPL (entérocoque)

Bacilles Gram —

*Escherichia coli* 24 IPL (colibacille)

*Proteus vulgaris* 698 IPL

*Pseudomonas aeruginosa* 725 IPL (pyocyanique)

Bacille Gram +

*Bacillus subtilis* 2160 IPL (forme végétative)

Emulsion de spores

*Bacillus subtilis* 3096 IPL

(1) Nous remercions l'Institut Pasteur de Lyon d'avoir bien voulu mettre à notre disposition les souches utilisées.

Pour les *Proteus vulgaris* et *Pseudomonas aeruginosa*, nous avons choisi des formes non envahissantes de façon à faciliter l'appréciation du nombre des colonies, en prenant soin, bien entendu, que ces formes non envahissantes présentent les mêmes caractéristiques de résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques de référence que les formes envahissantes correspondantes.

Nous avons choisi des spores de *Bacillus subtilis* préparés selon la technique décrite par Chabbert Y et Boulingre H.

Ces suspensions se conservent très bien et sont très stables dans les conditions définies par les auteurs.

De plus, elles ne présentent aucune difficulté de germination qui est très rapide dès que l'émulsion de spores est transférée sur milieu nutritif.

En outre, ces suspensions sont faciles à se procurer car elles sont maintenant bien standardisées dans tous les laboratoires s'intéressant au dosage microbiologique des antibiotiques.

Enfin, les spores de *B. subtilis* se caractérisent par une résistance à la température et aux antiseptiques analogue à celle des autres germes sporulés pathogènes aérobies ou anaérobies et apparaissent ainsi comme un test de valeur pour l'appréciation d'un désinfectant.

Ajoutons que le *B. subtilis* a l'avantage de ne pas être pathogène et qu'ainsi sa manipulation n'est pas dangereuse pour l'expérimentateur.

Les germes énumérés ci-dessus répondent aux caractères biochimiques et culturaux des espèces correspondantes décrites dans le « *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* » (édition 1957).

Nous avons toutefois complété ces caractéristiques en effectuant pour chaque germe un antibiogramme complet qui a été d'ailleurs répété avant chaque expérience mettant en jeu le germe, de façon à pouvoir affirmer la permanence des caractères de sensibilité antibiotique du germe considéré pendant toute la durée de notre expérience.

Nous avons établi pour les antibiogrammes les mêmes conditions expérimentales que dans l'étude des huiles essentielles, c'est-à-dire que nous avons adopté les mêmes milieux de culture, les mêmes méthodes de dilution et d'ensemencement et les mêmes disques.

Nous détaillerons ces conditions expérimentales ci-après.

Nous précisons que tous les germes primitivement conservés lyophilisés ne sont utilisés dans les expériences qu'après au moins

trois passages sur la gélose utilisée de façon à obtenir une vitalité bien définie.

Ci-après les caractères de sensibilité aux antibiotiques des germes tests :

## Antibiogrammes

(Diamètre du cercle d'inhibition en mm)

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Bacitracine | 16 | 19 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Carbomycine (20µg) | 32 | 22 | 0 | 0 | 0 | 30 |
| Chloramphénicol (50 µg) | 28 | 24 | 26 | 28 | 20 | 31 |
| Chlortétracyline (12 µg) | 20 | 21 | 14 | 0 | 0 | 30 |
| Colymicine | 20 | 11 | 20 | 0 | 22 | 18 |
| Erythromycine (6 µg) | 32 | 22 | 0 | 0 | 20 | 31 |
| Framycetine | 30 | 16 | 22 | 25 | 18 | 28 |
| Furadoïne | 42 | 21 | 20 | 13 | 0 | 25 |
| Kanamycine | 28 | 16 | 24 | 25 | 0 | 36 |
| Néomycine | 26 | 19 | 21 | 22 | 16 | 26 |
| Novobiocine | 32 | 15 | 0 | 0 | 0 | 24 |
| Oléandomycine (20 µg) | 32 | 24 | 0 | 0 | 0 | 32 |
| Oxytétracycline | — | 29 | — | 0 | 0 | 28 |
| Pénicilline (0,50 U.O.) | 40 | 0 | 0 | 0 | 0 | 28 |
| Polymyxine | 15 | 11 | 16 | 0 | 16 | 16 |
| Spiramycine (100 µg) | 32 | 26 | 14 | 0 | 0 | 29 |
| Streptomycine (60 µg) | 34 | 16 | 25 | 30 | 28 | 33 |
| Sulfamides : | | | | | | |
| A - Sulfadiazine | 0 | 0 | 20 | 0 | 20 | 0 |
| B - Sulfamethopyrazine | 0 | 0 | 28 | 26 | 12 | 0 |
| C - Sulfamethylthiodiazol | 0 | 0 | 22 | 0 | 0 | 0 |
| D - Sulfathiazol | 0 | 0 | 24 | 0 | 22 | 0 |
| Tétracycline (5 µg) | 24 | 23 | 16 | 0 | 0 | 31 |

1 : *Micrococcus pyogenes* var. *aureus* 101 IPL.
2 : *Streptococcus faecalis* groupe D 9 IPL.
3 : *Escherichia coli* 24 IPL.
4 : *Proteus vulgaris* 698 IPL.
5 : *Pseudomonas aeruginosa* 725 IPL.
6 : *Bacillus subtilis* (forme végétative) 2160 IPL.

## Milieux de culture

Deux milieux de culture ont été retenus, l'un solide, l'autre liquide.

Nous avons préféré des formules classiques offrant des conditions de culture normales aussi physiologiques que possible pour les germes.

La vitalité des germes étant très suffisante, nous avons pu éviter l'introduction de sucres (glucose en particulier) dont les produits de fermentation (alcools, aldéhydes, acides organiques divers, etc...) auraient risqué, même à l'état de traces, d'interférer avec les essences dont nous savons la composition complexe.

Nous n'avons pas voulu d'un autre côté adopter un milieu trop peu nutritif tel que la suspension des germes en eau physiologique ou distillée, ces supports ne créant pas des conditions de vitalité et de survie normales.

Les milieux de culture correspondent aux formules suivantes :

Bouillon ordinaire :

| | |
|---|---|
| Peptone Vaillant 5 B..... | 5 g |
| Peptone bactériologique Roche.. | 5 g |
| Extrait de viande Liebig..... | 5 g |
| Chlorure de sodium..... | 5 g |
| Eau q.s.p..... | 1 000 ml |
| Ajuster à pH 7,6 | |

Milieu solide :

Il correspond au milieu précédent additionné de 25 g de gélose par litre.

## Les méthodes expérimentales

Nous avons utilisé trois méthodes :

1) Une méthode d'étude du pouvoir bactériostatique par diffusion en gélose, utilisant des disques de papier filtre imprégnés des essences et corps aromatiques à étudier ;
2) Une méthode d'étude des pouvoir bactériostatique des essences en phase vapeur dans l'atmosphère de faible volume (97,75 $cm^3$) que constitue une boîte de Pétri (micro-atmosphère) ;
3) Une méthode d'étude du pouvoir bactéricide en milieu liquide.

**1 . Méthode des disques**

*Technique*

Les expériences sont effectuées avec des boîtes de Pétri de 100 mm de diamètre dans lesquelles on coule 20 ml de gélose. La hauteur du milieu gélosé est ainsi de 2,6 mm.

Les boîtes sont séchées et vérifiées quant à leur stérilité par un séjour de 24 heures à l'étuve à 37°.

Les boîtes sont ensemencées en surface avec des dilutions de cultures de 24 heures en bouillon ordinaire des différents germes.

Les dilutions utilisées sont les suivantes :

| Germes | Nombre de germes par ml avant dilution | Dilution | Nombre de germes par ml après dilution |
|---|---|---|---|
| *M. pyogenes aureus* | $6 \times 10^9$ | 1/30000 | 200 000 |
| *E. coli* | $6 \times 10^9$ | 1/30000 | 200 000 |
| *Pseudomonas aeruginosa* | $6 \times 10^9$ | 1/30000 | 200 000 |
| *Proteus* | $6 \times 10^9$ | 1/30000 | 200 000 |
| *Streptococcus faecalis* | $4 \times 10^9$ | 1/3000 | 1 333 000 |
| *B. subtilis* | $15 \times 10^{10}$ | 1/30000 | 5 000 000 |

La boîte de Pétri gélosée est recouverte avec 2 ml de la dilution qui est laissée en contact avec la gélose pendant 30 minutes.

L'excédent de liquide est récupéré par aspiration après inclinaison de la boîte de Pétri pendant 30 minutes.

Immédiatement après cette opération, on place au centre géométrique de la boîte de Pétri, sur la gélose, le disque préalablement imprégné du produit à tester de la façon suivante :

— Disque de papier filtre de 10 mm de diamètre (papier, force 40 kg (Etablissements Leroux, 148, rue Amelot, Paris-IIe) c'est-à-dire disque identique à ceux utilisés pour les antibiogrammes par l'Institut Pasteur) ;

— Imprégnation par 0,02 ml d'essence exactement mesuré à la pipette de précision de 0,1 ml graduée en centièmes de ml (pipettes « Preciss »). Nous avons pris soin d'utiliser une pipette par produit pour éviter tout mélange et l'inconvénient de lavages obligatoirement imparfaits ;

— La dose de 0,02 ml a été adoptée car elle permet une imprégnation suffisante mais non excessive du disque qui retient

ainsi la totalité du produit actif sans perte aucune par écoulement de liquide superflu.

Ainsi préparé le disque est déposé à la surface de la gélose comme nous l'avons dit plus haut.

La boîte de Pétri chargée du disque est immédiatement retournée couvercle en bas et placée à l'étuve à 37°.

La lecture est effectuée au bout de 24 heures et les résultats sont exprimés par la mesure du diamètre du cercle d'inhibition en millimètres.

Dans de nombreux cas, nous avons concrétisé l'aspect des boîtes par des documents photographiques dont nous produisons ici seulement les plus éloquents vu leur grand nombre (plus de cent).

Les chiffres notant le diamètre du cercle d'inhibition varient évidemment de 10 mm (diamètre du disque) noté par « O » dans nos résultats à 100 mm (diamètre de la boîte).

Nous avons vérifié dans une série d'expériences préalables comparant des boîtes normales et des boîtes hermétiquement fermées que l'étanchéité toute relative des boîtes de Pétri n'avait en pratique aucune influence et qu'aucune interférence ne se manifestait d'une boîte à l'autre.

Dans une autre série d'expériences préalables, nous avons vérifié l'influence éventuelle d'un solvant en imbibant nos disques

soit avec II gouttes d'essence pure,

soit avec le mélange II gouttes d'essence
II gouttes d'alcool isopropylique.

Nos résultats sont reproduits dans le tableau page 116 :

Effet de quelques essences avec ou sans alcool isopropylique.

| **Produit** II gouttes | *St. pyogenes aureus* | *E. coli* | *Ps. aeruginosa* | *Proteus* |
|---|---|---|---|---|
| Cannelle Ceylan | 67,5 | 40 | 40 | 40 |
| *id.* + alcool isopropyl. | 82,5 | 48,5 | 44 | 43 |
| Eucalyptus globulus | 0 | 16,5 | 0 | 12 |
| *id.* + alcool isopropyl. | 0 | 17,5 | 25 | 18 |
| Lavande | 30 | 20 | 0 | 13 |
| *id.* + alcool isopropyl. | 35 | 23,5 | 0 | 11 |
| Lavandin abrialis | 42,5 | 22,5 | 0 | 15 |
| *id.* + alcool isopropyl. | 52,5 | 26 | 24 | 15 |
| Lemongrass | 100 | 41 | 0 | 30 |
| *id.* + alcool isopropyl. | 100 | 52,5 | 25 | 29 |
| Menthe poivrée Am. | 40 | 40 | 0 | 12 |
| *id.* + alcool isopropyl. | 40 | 26 | 25 | 30 |
| Pin sylvestre | 30 | 20 | 0 | 14 |
| *id.* + alcool isopropyl. | 30 | 23,5 | 24 | 12 |
| Thym rouge | 50 | 46,5 | 30 | 48 |
| *id.* + alcool isopropyl. | 75 | 74 | 30 | 63 |
| Alcool isopropylique | 0 | 0 | 0 | 0 |

*(Diamètre du cercle d'inhibition en mm)*

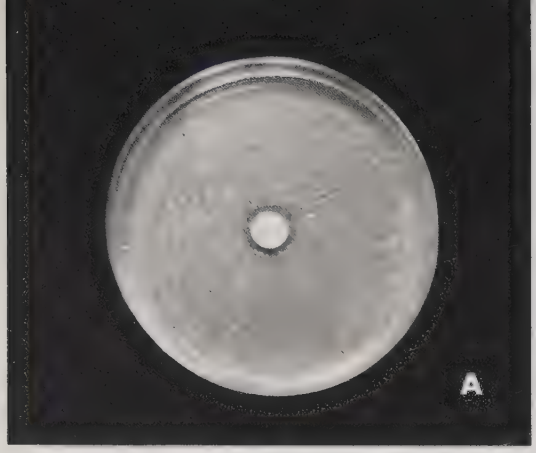
On peut voir que, bien que l'alcool isopropylique n'ait pas d'action propre dans nos conditions expérimentales, il semble que dans certains cas l'adjonction de cet alcool permet d'observer une augmentation de l'activité.

---

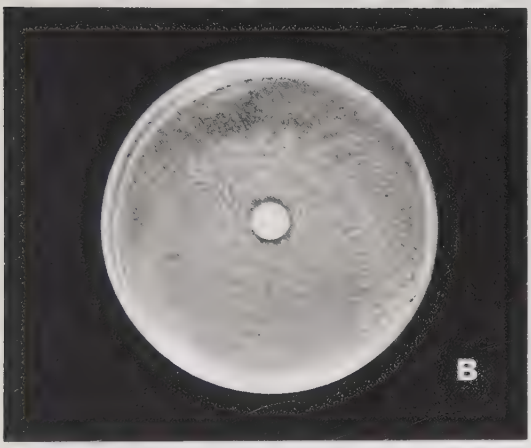
## Exemples d'influence du solvant et de la fermeture hermétique des boîtes de Pétri

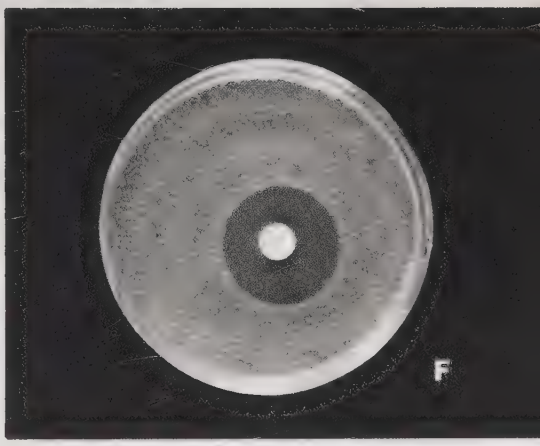
Germe : *Proteus vulgaris*

A — Eucalyptus globulus - boîte fermée
B — Eucalyptus globulus - boîte hermétiquement fermée
C — Eucalyptus globulus + alcool isopropylique - boîte fermée
D — Eucalyptus globulus + alcool isopropylique - boîte hermétiquement fermée
E — Cannelle de Ceylan - boîte fermée
F — Cannelle de Ceylan - boîte hermétiquement fermée
G — Cannelle de Ceylan + alcool isopropylique - boîte fermée
H — Cannelle de Ceylan + alcool isopropylique - boîte hermétiquement fermée

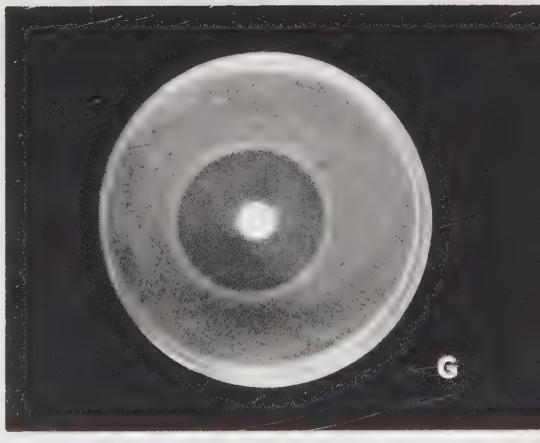

A

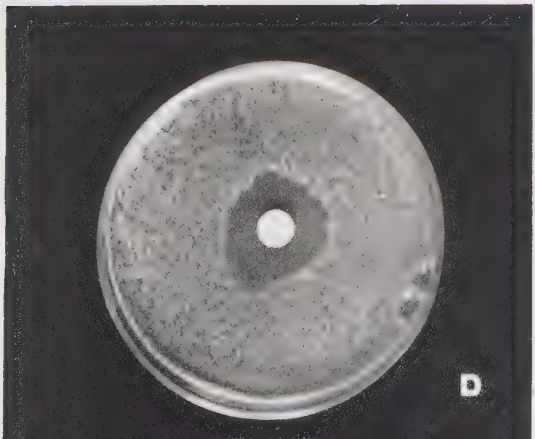
E

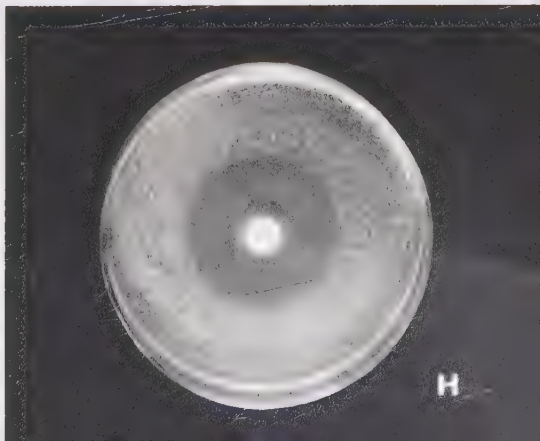

B


F

C


G


D


H

Il est cependant difficile de conclure car il est très probable que les conditions de diffusion, la nature de l'essence, la nature du germe interviennent toutes à la fois pour expliquer ce phénomène.

Etant donné, dans ces conditions, que l'alcool isopropylique est susceptible d'introduire une cause d'erreur expérimentale supplémentaire dans la classification des essences d'après leur activité antibactérienne, nous avons été conduits à éliminer ce solvant dans la suite de nos expériences.

Ceci attire toutefois l'attention sur l'importance du solvant et fait regretter que dans certains travaux et dans certaines préparations commerciales sa nature et son rôle exact ne soient jamais précisés.

Dans les essais avec les antiseptiques de référence, le formol et le phénol ont été utilisés dans les mêmes conditions, c'est-à-dire par imprégnation du disque avec 0,02 ml des solutions correspondantes décrites plus haut.

Bien entendu, nous avons toujours effectué des essais témoin sans essence ni antiseptique.

Nous avons obtenu dans tous les cas une pousse parfaitement homogène, les boîtes montrant des colonies non confluentes, suffisamment denses et réparties régulièrement sur toute la superficie de la gelose.

*Discussion*

La méthode des disques ci-dessus décrite s'inspire de la technique classique de l'antibiogramme.

Elle permet d'évaluer le pouvoir **bactériostatique de l'essence** considérée.

On doit observer cependant que les résultats dépendent de la constitution même de l'essence et qu'ils sont conditionnés par ses facultés de diffusion et de dissolution dans le milieu gelosé.

La méthode a toutefois les avantages d'indiquer avec précision le pouvoir de diffusion et d'être d'exécution rapide.

Ce second caractère nous a paru important et convenant tout spécialement à une étude en série sur un grand nombre de produits (cinquante quatre).

L'utilisation de cette méthode permet en outre une comparaison avec l'action des antibiotiques usuels dans des conditions expérimentales analogues.

L'expérience nous a montré que cette méthode n'explore pas exclusivement le pouvoir de diffusion de l'essence mais également pour une part sa vaporisation.

C'est ainsi que nous avons pu mettre en évidence dans certains cas en dehors du cercle d'inhibition par contact « direct » une réduction globale du nombre ou de la dimension des colonies sous l'influence d'une fraction vaporisée de l'essence.

Dans quelques cas, nous avons en outre pu mettre en évidence un double cercle d'inhibition que nous avons interprété comme dépendant de la diffusion différentielle des divers composant de l'essence dont la vitesse de migration dans le milieu et l'activité sur les germes peuvent être variables.

**2. Méthode des microatmosphères**

*Technique*

Nous avons opéré dans des conditions expérimentales absolument identiques à celles de la méthode précédente, la seule différence résidant dans la position du disque imprégné.

Dans cette méthode en effet, le disque imprégné comme ci-dessus de 0,02 ml du produit, est disposé au centre géométrique du couvercle de la boîte et non plus à la superficie de la gelose.

La boîte de Pétri est fermée et placée couvercle en bas à l'étuve à 37°.

Il n'y a donc pas dans cette méthode de contact direct en phase liquide avec les germes, et l'essence n'agit qu'à l'état des vapeurs qu'elle développe à 37°.

*Discussion*

La méthode permet de saisir le pouvoir **bactériostatique des vapeurs** d'huiles essentielles.

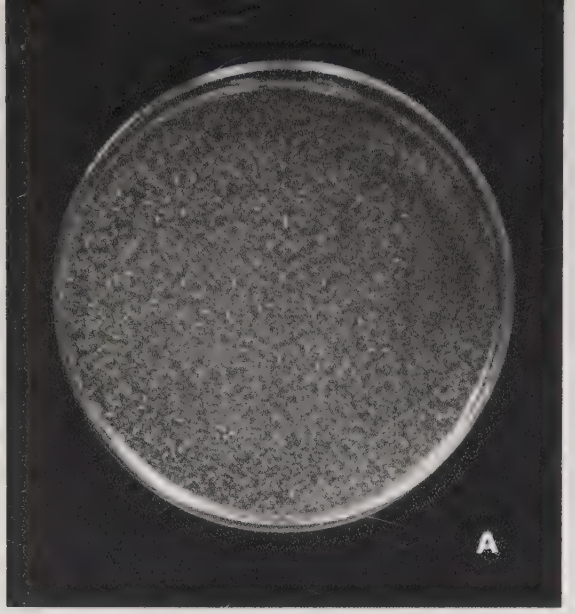
---

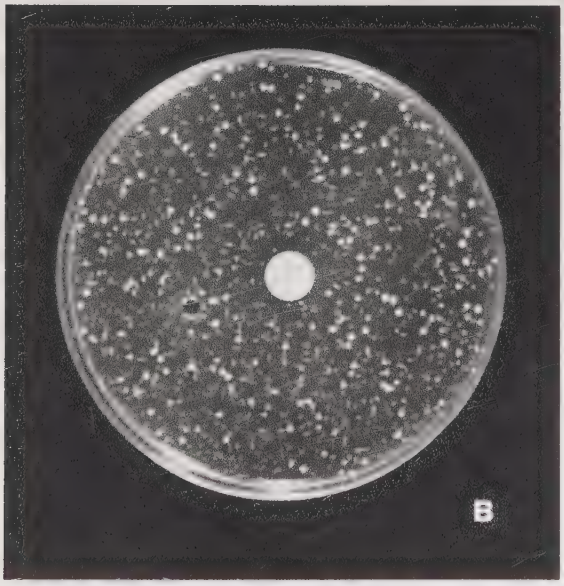
Modalités différentes d'action dans la méthode des disques

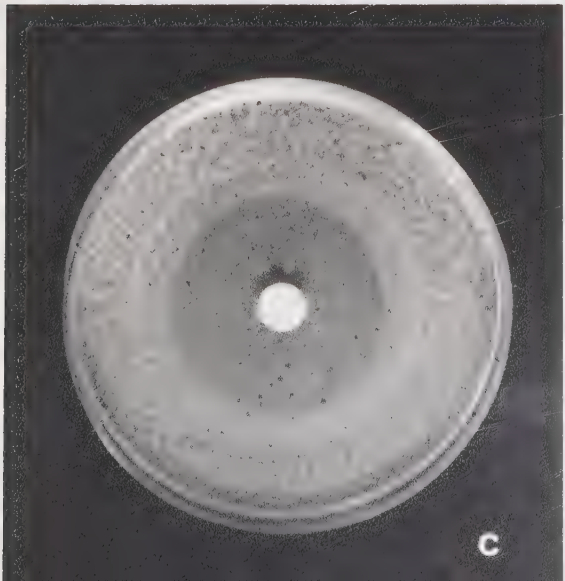
A — Témoin - *Micrococcus pyogenes*, var *aureus*.

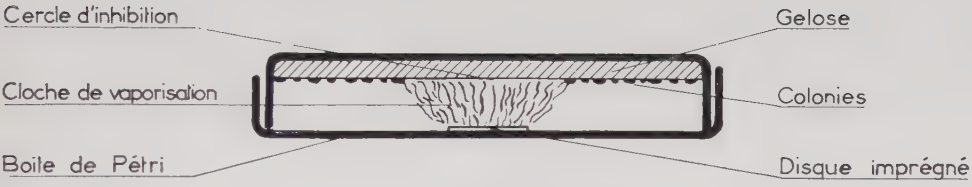
B — Exemple de réduction globale du nombre de colonies (vaporisation « indirecte »).
Germe : *Micrococcus pyogenes* var *aureus*.
Essence : Eucalyptus globulus.

C — Exemple de « double cercle » d'inhibition.
Germe : *Escherichia Coli*.
Essence : Eucalyptus globulus.

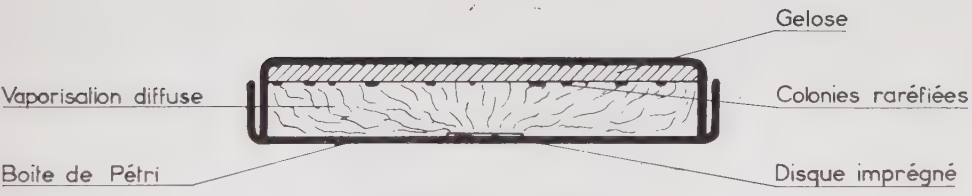

A


B

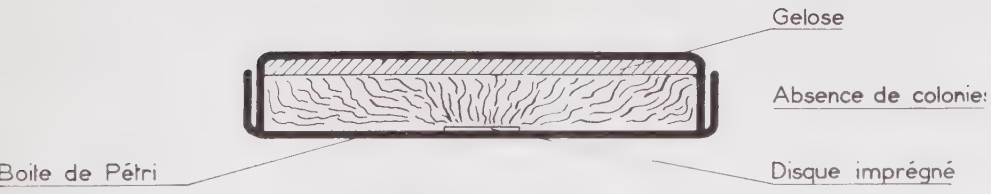

C




CLOCHE DE VAPORISATION




VAPORISATION DIFFUSE




STERILISATION TOTALE

Les résultats dépendent évidemment ici de la volatilité à 37° de l'essence et de ses composants.

Les vapeurs plus denses que l'air ne sont pas appréciées, mais seulement les produits les plus volatils à vapeur facilement ascendante étant donné la disposition de la boîte dans nos conditions d'expériences où l'essence se trouve en position inférieure.

Les résultats sont appréciés d'après les modifications du nombre ou de la dimension des colonies et sont notés de la manière suivante qui se réfère à la pousse totale :

++++ pousse identique au témoin
+++ légère action
++ action moyenne
+ pousse faible
0 stérilisation totale.

Mais les modalités différentes des évolutions observées donnent ici au document photographique la suprématie dans l'appréciation du résultat à condition évidemment d'une technique photographique rigoureuse utilisant en particulier le même coefficient d'agrandissement pour tous les clichés. (Nous en avons réalisé une centaine).

La méthode des microatmosphères nous a fourni pour certaines essences une appréciation supplémentaire du mode de vaporisation.

En effet dans certains cas il se produit une « cloche » de vaporisation se traduisant par un véritable cercle d'inhibition.

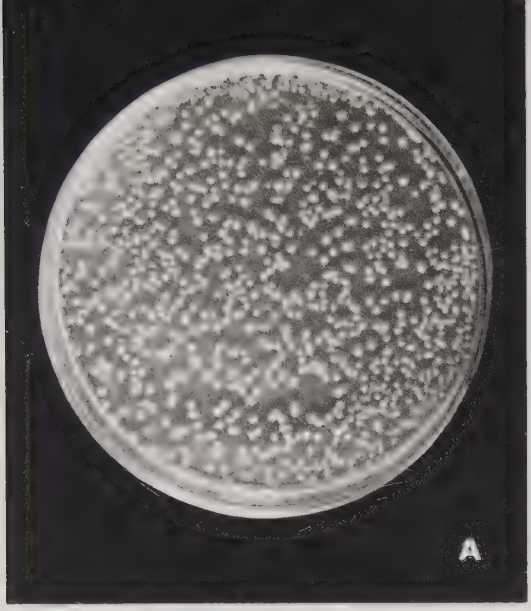
Dans d'autre cas, il se produit une vaporisation diffuse se traduisant par une réduction partielle du nombre et des dimensions des colonies sur toute la surface du milieu.

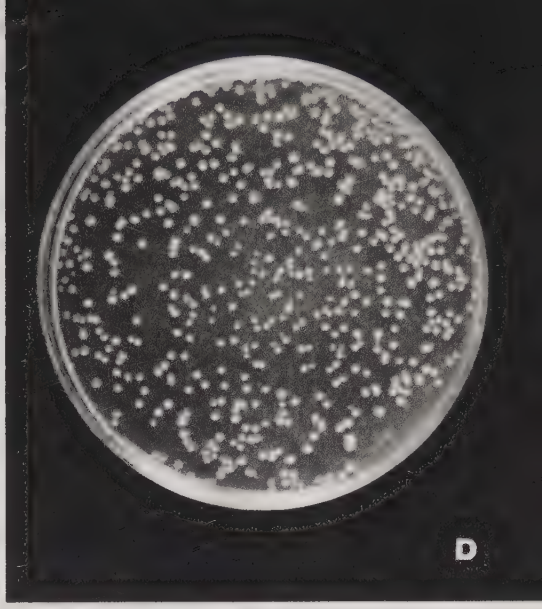
Dans certains cas enfin, il se produit une absence totale de colonies, sans qu'on puisse juger s'il s'agit d'une cloche de vaporisation très étendue ou de la vaporisation diffuse d'une essence très active.

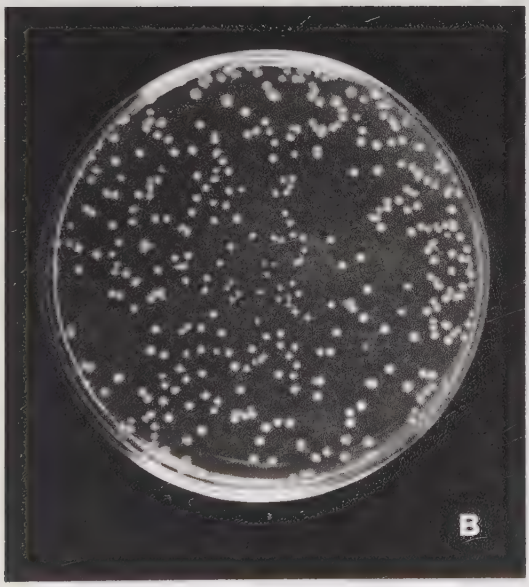
---

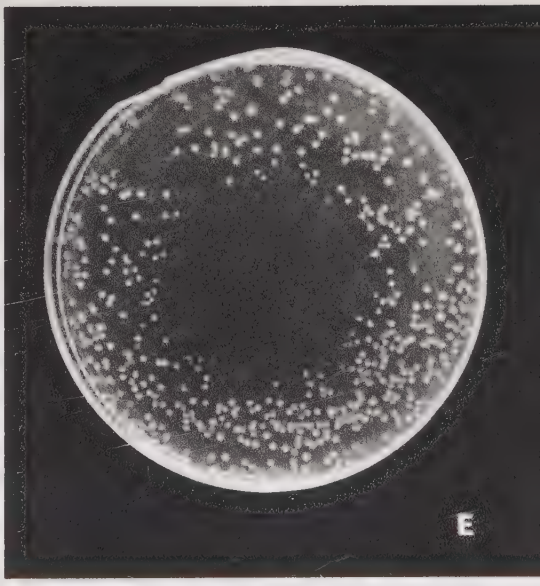
Modalités différentes d'action dans la méthode des microatmosphères

A — Témoin *B. subtilis*.
B — Exemple de réduction du nombre et de la taille des colonies (eugenol).
C — Exemple de réduction globale avec « cloche » (cannelle de Ceylan).
D — Exemple d'action négligeable (cèdre de l'Atlas).
E — Exemple de « cloche » d'inhibition (cymène).
F — Exemple d'inhibition totale (orange Italie).

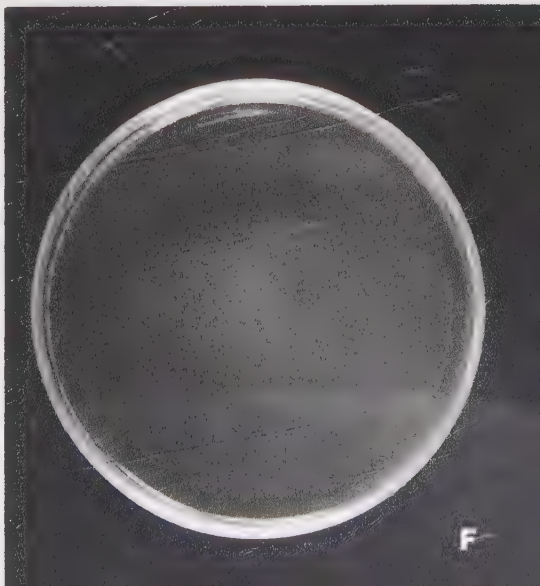

A


D


B


E

C


F

La méthode des microatmosphères représente pour nous une excellente technique d'exploration des essences et de leurs composés volatils car c'est celle qui se rapproche le plus des conditions d'utilisation de produits destinés à agir eux-mêmes par vaporisation.

Bien entendu, nous avons comme précédemment effectué des essais avec les antiseptiques de référence, formol et phénol.

Nous n'avons pas systématiquement étudié la repousse ultérieure après 24 heures puisque nous nous étions réservé d'étudier le pouvoir bactéricide des huiles essentielles en milieu liquide.

**3 Etude du pouvoir bactéricide en bouillon**

*Technique*

On utilise comme précédemment des disques imprégnés de 0,02 ml d'huile essentielle, qui sont disposés dans le fond de tubes à essai standard (18 mm de diamètre) stériles.

On ajoute dans chaque tube 6 ml d'une dilution en bouillon ordinaire des germes-test, identique à la dilution utilisée précédemment.

La concentration en corps actif est donc de 0,02 ml pour 6 ml de bouillon soit un rapport relatif de $\frac{1}{300}$

Les essences étant insolubles dans l'eau, le contact entre l'inoculum et l'essence est assuré pendant toute la durée de l'expérience (soit 18 heures), par agitation mécanique à l'agitateur de Kahn disposé dans une étuve à 37°.

Pendant ces 18 heures, l'agitation n'est interrompue que le temps strictement nécessaire aux prélèvements pour les repiquages.

Cette façon de procéder nous a paru préférable à toute introduction de solvant, de substance tensioactive ou de milieu gelosé qui auraient risqué d'interférer ou d'imposer des conditions expérimentales pouvant entraîner une perte en substances actives.

Les prélèvements ont été faits à l'anse de platine après des temps de contact germe-essence sous agitation de :

1 minute
5 minutes
10 —
30 —
60 —
18 heures

On prélève une anse de platine du liquide et on la reporte dans 6 ml de milieu de subculture (bouillon ordinaire stérile).

Tous les milieux de subculture sont alors placés à l'étuve à 37°.

Une première lecture des résultats est effectuée au bout de 24 heures et un contrôle définitif au 8e jour.

On note la pousse microbienne dans les tubes de subculture.

*Discussion*

Nous avons tenu à utiliser le repiquage en milieu liquide car il permet d'apprécier le pouvoir bactéricide total des essences et il réalise une dilution terminale de l'essence testée suffisamment étendue pour éliminer tout pouvoir antimicrobien résiduel dans le tube de subculture.

La méthode en milieu liquide ci-dessus apprécie la **destruction totale** des germes mais ne peut évidemment mettre en évidence les destructions partielles.

Il est pourtant intéressant d'avoir une appréciation qualitative du pourcentage de germes survivants pour effectuer une discrimination plus approfondie du pouvoir bactéricide des essences.

C'est pourquoi dans certaines expériences, nous avons étudié également le pourcentage de survivants par repiquage en milieu solide.

Dans ce cas, les prélèvements, réalisés de la même façon et aux mêmes temps qu'il est dit ci-dessus, sont repiqués sur boîte de subculture solide (gélose ordinaire stérile).

Les boîtes sont placées à l'étuve à 37° pendant 24 heures.

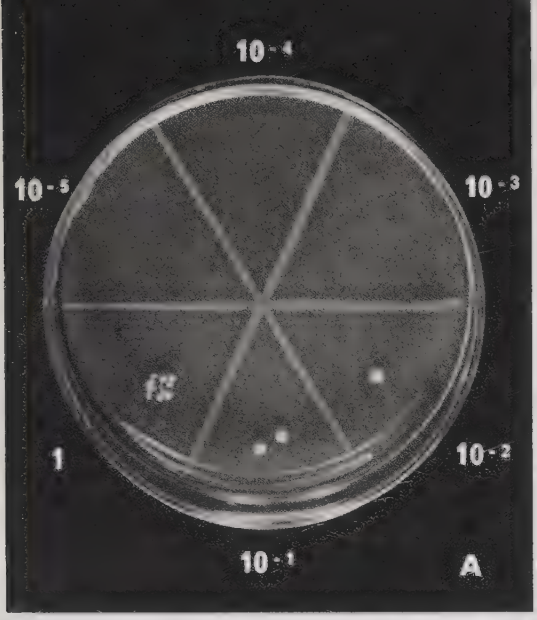
---

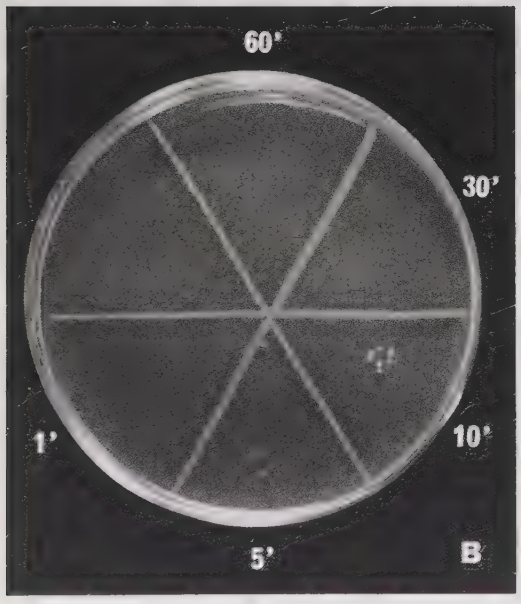
Modalités différentes d'action dans la méthode des microatmosphères

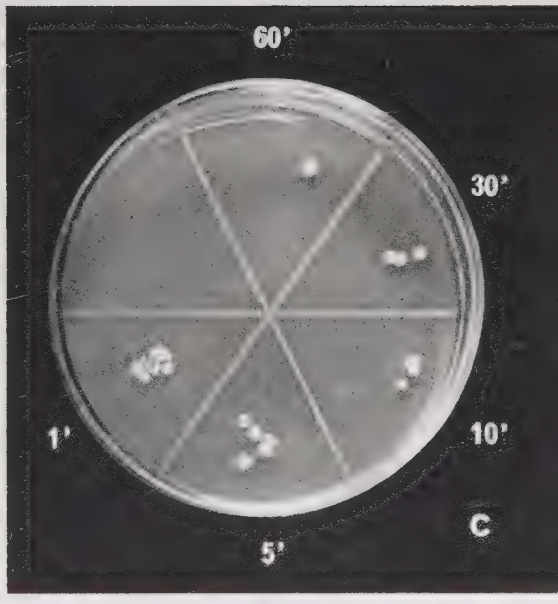
A — Témoin - *Micrococcus pyogenes* var *aureus*.
B — Exemple de réduction du nombre et de la taille des colonies (terpènes de Citron).
C — Exemple de « cloche » d'inhibition (Cymène).
D — Exemple d'inhibition totale (Terpènes de lemongrass).

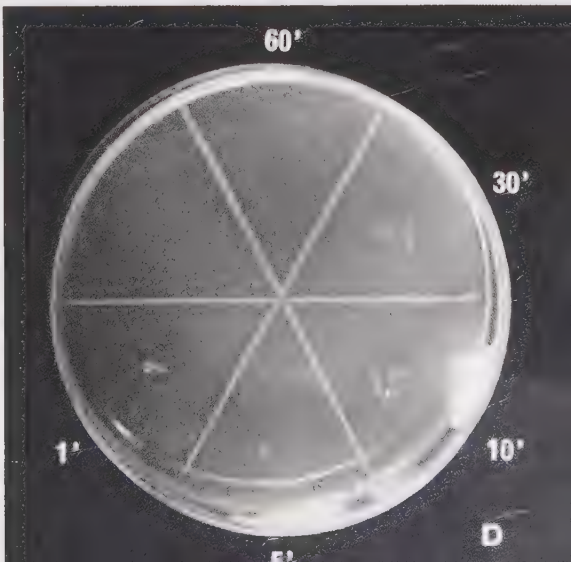
Evaluation quantitative du pourcentage de germes survivants par comparaison avec des dilutions de titre connu

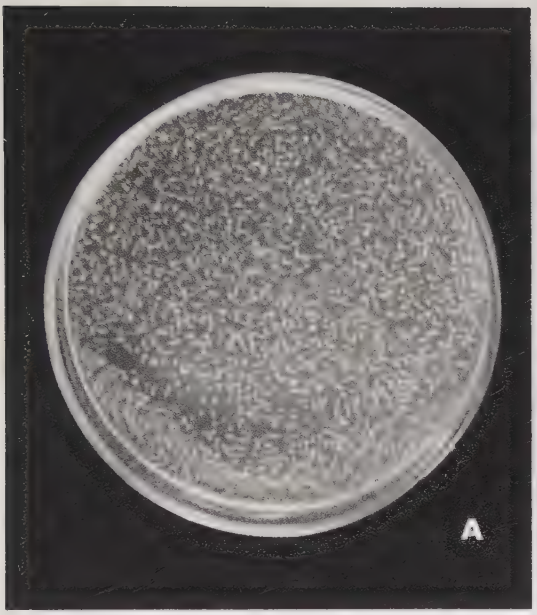
A — Témoin - *Bacillus subtilis* (spores).
B — Effet du Melaleuca (Ets Prevet)
C — Effet de l'eugenol.
D — Effet du formol.

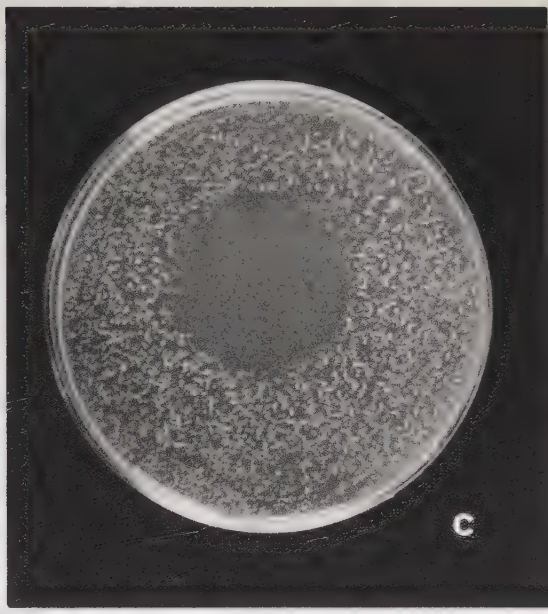

10 - 4
10 - 5
10 - 3
1
10 - 2
10 - 1
A


60'
30'
1'
10'
5'
B

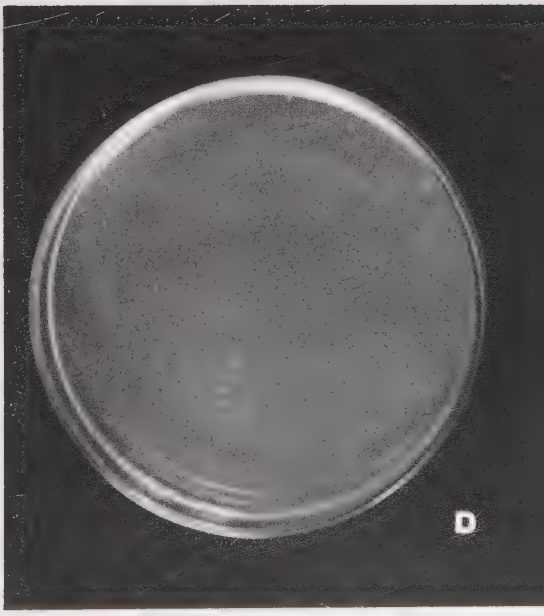

60'
30'
1'
10'
5'
C


60'
30'
1'
10'
D


A


C

B


D

Les pousses respectives sont comparées aux pousses obtenues avec des dilutions témoins de l'émulsion bactérienne d'essai aux titres de :

| | |
|---|---|
| Emulsion d'essai | pure |
| 1re dilution..... | 10 pour cent |
| 2e dilution..... | 1 pour cent |
| 3e dilution..... | 0,1 pour cent |
| 4e dilution..... | 0,01 pour cent |
| 5e dilution..... | 0,001 pour cent |

Ainsi obtient-on d'après l'échelle ci-dessus une appréciation numérique du pourcentage de survivants.

Comme dans toutes nos expériences, nous avons fait des témoins avec les deux antiseptiques de référence phénol et formol dans les mêmes conditions : imprégnation de disques avec 0,02 ml des solutions de départ du Codex dans 6 ml de bouillon.

# III - Résultats

## MÉTHODE DES DISQUES

*diamètre du cercle d'inhibition en mm*

| Essence 0,02 ml | M. pyogenes var. aureus | E. Coli | Pseudomonas aeruginosa | Proteus | Streptococcus faecalis | B subtilis (végétatif) | B subtilis (spores) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. Amandes amères ... | 17 | 20 | 19 | 14 | 18 | 25 | 21 |
| 2. Badiane..... | 35 | 0 | 0 | 0 | 0 | 21 | 16 |
| 3. Bergamote..... | 22 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 17 |
| 4. Bois de Rose Brésil . | **62** | 16 | 0 | 13 | 16 | 21 | 14 |
| 5. Camomille romaine.. | 25 | 0 | 11 | 12 | 12 | 24 | 19 |
| 6. Camomille bleue .... | 14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 | 19 |
| 7. Camphre..... | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | | 17 |
| 8. Cannelle de Ceylan.. | **72** | **32** | **25** | **27** | **25** | **48** | **42** |
| 9. Cannelle de Chine... | **70** | **45** | **33** | **25** | **25** | **35** | **54** |
| 10. Cèdre Atlas..... | 15 | 0 | 0 | 0 | 13 | 17 | 19 |
| 11. Ciste..... | 28 | 0 | 0 | 0 | 13 | 25 | 23 |
| 12. Citron zeste déterpénée..... | **100** | 11 | 11 | 13 | **31** | illisible très forte action | 100 |
| 13. Citron Californie..... | 16 | 0 | 0 | 0 | 12 | | 14 |
| 14. Citron Italie..... | 16 | 0 | 0 | 0 | 16 | 21 | 14 |
| 15. Cyprès..... | 22 | 0 | 0 | 0 | 11 | 23 | 20 |
| 16. Eucalyptus globulus.. | 13 | 11 | 0 | 0 | 0 | 12 | 0 |
| 17. Fenouil amer..... | 16 | 0 | 0 | 0 | 10 | 15 | 16 |
| 18. Genièvre..... | 16 | 0 | 0 | 0 | 11 | 18 | 17 |
| 19. Géranium Algérie ... | 32 | 0 | 0 | 0 | 15 | 23 | 30 |
| 20. Géranium Bourbon.. | 23 | **55** | 0 | 11 | 14 | 18 | 26 |
| 21. Girofle clous..... | 26 | 18 | 0 | **30** | 16 | 21 | 4 |
| 22. Girofle feuilles..... | 28 | 18 | 11 | 16 | 18 | 22 | 25 |
| 23. Lavande..... | 30 | 17 | 0 | 11 | 19 | 24 | 32 |
| 24. Lavandin Abrialis .. | 55 | 16 | 0 | 0 | 14 | | **40** |
| 25. Lemongrass..... | 100 | 11 | 0 | 12 | **25** | forte action | **90** |
| 26. Menthe poivrée d'Amérique..... | **45** | **60** | 0 | 12 | 16 | | 35 |
| 27. Muscade..... | 14 | 0 | 0 | 0 | 11 | 11 | 11 |
| 28. Niaouli..... | 15 | 11 | 11 | 13 | 18 | | **100** |
| 29. Orange douce Californie..... | 12 | 0 | 0 | 0 | 13 | forte action | 11 |

| Essence 0,02 ml | M. pyogenes var. aureus | E. Coli | Pseudomonas aeruginosa | Proteus | Streptococcus faecalis | B subtilis (végétatif) | B subtilis spores |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 30. Orange Guinée..... | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 14 | 20 |
| 31. Orange Italie..... | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 | **100** |
| 32. Palmarosa..... | 29 | 0 | 11 | 13 | 13 | 20 | 20 |
| 33. Patchouli Singapour | 18 | 0 | 0 | 0 | 15 | 29 | 30 |
| 34. Petitgrain Bigaradier Paraguay ..... | 28 | 0 | 0 | 0 | 12 | 26 | **90** |
| 35. Piment..... | 28 | 26 | 12 | 17 | 16 | 25 | 23 |
| 36. Pin sylvestre..... | 30 | 29 | 22 | 19 | 15 | | 28 |
| 37. Santal Australie..... | 15 | 0 | 0 | 0 | 13 | 20 | 22 |
| 38. Santal Mysore..... | 16 | 0 | illis. | 0 | 12 | 18 | 18 |
| 39. Sassafras..... | 00 | 0 | 0 | 0 | 16 | (forte action) | **90** |
| 40. Sauge de Grasse..... | 17 | 0 | 0 | 0 | 17 | (illisible) | 32 |
| 41. Tagetes du Kenya... | 27 | 21 | 12 | **25** | **21** | 23 | 23 |
| 42. Thym rouge..... | **59** | 29 | 11 | 18 | **33** | **37** | **45** |
| 43. Vetyver Bourbon..... | 18 | 0 | 0 | 16 | 14 | 15 | 19 |
| 44. Vetyver Haïti..... | 17 | 0 | 0 | 13 | 13 | 17 | 18 |
| 45. Ylang Ylang..... | 17 | 0 | 0 | 0 | 12 | 14 | 18 |
| 46. Aldéhyde cinnamique..... | **67** | **44** | **34** | **36** | 13 | **70** | **52** |
| 47. Carvacrol..... | **66** | 20 | 11 | 17 | **34** | **44** | **100** |
| 48. Citral de Lemongrass ..... | **100** | 13 | 12 | 13 | 41 | (forte action) | **100** |
| 49. Cymène..... | 34 | 12 | 0 | 13 | 17 | 26 | 21 |
| 50. Eugénol..... | 29 | 21 | 13 | 17 | 14 | 23 | 27 |
| 51. Melaleuca..... | 15 | 13 | 0 | 11 | 22 | | 30 |
| 52. Terpènes de Citron.. | 11 | 13 | 0 | 0 | 18 | 12 | 13 |
| 53. Terpènes de Lemongrass..... | **100** | 11 | 0 | 0 | 20 | (illisible) (tr. forte action) | **100** |
| 54. Thymène..... | 26 | 13 | 0 | 13 | 16 | 29 | **45** |
| Phénol ..... | 56 | 30 | 27 | 34 | 24 | 32 | 65 |
| Formol ..... | 100 | 80 | 68 | 70 | 100 | 95 | 87 |
| Alcool isopropylique. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15 |
| Pénicilline (1 unité).. | 0 | 14 | 0 | 16 | 0 | 0 | 29 |

0 = aucune inhibition.

## MÉTHODE DES MICROATMOSPHÈRES

*appréciation de la pousse*

++++ Pousse identique au témoin (sans essence)
+++ Légère action
++ Action moyenne
+ Pousse faible ; très forte action
0 Stérilisation totale

Les chiffres indiquent en mm le diamètre de la cloche d'inhibition quand elle existe.

| Essence 0,02 ml | M. pyogenes var. aureus | E. Coli | Pseudomonas aeruginosa | Proteus | Streptococcus faecalis | B subtilis (végétatif) | B subtilis spores |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin ..... | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 1. Amandes amères.. | 0 | +++ | 0 | ++++ | +++ | ++ | ++ |
| 2. Badiane..... | ++++ | +++ | ++++ | ++++ | +++ | +++ | ++ |
| | | | | | | | 23 mm |
| 3. Bergamote..... | ++ | +++ | ++++ | ++++ | +++ | + | ± |
| 4. Bois de Rose Brésil | ++ | +++ | ++ | + | ++++ | 0 | ± |
| | 40 mm | | | | | | 70 mm |
| 5. Camomille romaine | +++ | +++ | ++++ | +++ | +++ | +++ | +++ |
| 6. Camomille bleue.. | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | +++ |
| 7. Camphre..... | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | +++ |
| 8. Cannelle de Ceylan | ± | ++ | +++ | + | + | + | + |
| | | | 17 mm | 33 mm | | | 40 mm |
| 9. Cannelle de Chine. | ++ | ++ | +++ | + | +++ | ± | + |
| | 52 mm | 55 mm | 12 mm | 30 mm | | | 80 mm |
| 10. Cèdre Atlas..... | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | +++ | ++ |
| | | | | | | | 25 mm |
| 11. Ciste..... | ++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | + |
| | 40 mm | | | | | | 65 mm |
| 12. Citron zeste déterpénée..... | 0 | +++ | ++++ | +++ | + | 0 | 0 |
| 13. Citron Californie.. | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | 0 | ++ |
| 14. Citron Italie..... | + | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | 0 | ++++ |
| 15. Cyprès..... | +++ | +++ | ++++ | ++++ | +++ | ++ | +++ |
| 16. Eucalyptus globulus..... | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ± | +++ |
| 17. Fenouil amer..... | +++ | ++++ | +++ | +++ | ++++ | ± | +++ |
| 18. Genièvre..... | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | + | ± |
| 19. Géranium Algérie. | ++ | +++ | +++ | ++++ | ++++ | +++ | ++ |
| | | | | | | | 30 mm |
| 20. Géranium Bourbon | ± | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | ++ |
| | | | | | | | 20 mm |
| 21. Girofle clous..... | +++ | ++++ | ++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ |

| Essence 0,02 ml | M. pyogenes var. aureus | E. Coli | Pseudomonas aerugi nosa | Proteus | Streptococcus faecalis | B subtilis (végétatif) | B. subtilis (spores) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 22. Girofle feuilles.... | +++ | +++ | ++ | ++++ | ++++ | +++ | +++ |
| 23. Lavande..... | 27 mm<br>++++ | +++ | ++++ | ++++ | +++ | ± | ±<br>75 mm |
| 24. Lavandin Abrialis | +++ | +++ | ++++ | ++++ | +++ | ++ | ++<br>25 mm |
| 25. Lemongrass..... | 0 | +++ | ++++ | ++ | +++ | 0 | 0 |
| 26. Menthe poivrée d'Amérique..... | +++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ± | +<br>45 mm |
| 27. Muscade ..... | +++ | ++++ | ++ | +<br>30 mm | +++ | ++++ | +++ |
| 28. Niaouli..... | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | | + |
| 29. Orange douce Californie..... | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | + | 0 | +++ |
| 30. Orange Guinée .. | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | 0 | +++ |
| 31. Orange Italie..... | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | 0 | 0 |
| 32. Palmarosa..... | +++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | +++ |
| 33. Patchouli Singapour..... | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | +<br>20 mm |
| 34. Petitgrain Bigaradier Paraguay..... | + | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | + | ++<br>30 mm |
| 35. Piment..... | +++ | +++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ |
| 36. Pin sylvestre..... | ++ | +++ | ++++ | + | +++ | + | +++ |
| 37. Santal Australie... | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | ++++ | +++ |
| 38. Santal Mysore.... | +++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | +++ |
| 39. Sassafras..... | 0 | + | ++++ | ++++ | ++++ | 0 | +<br>45 mm |
| 40. Sauge de Grasse.. | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | ++<br>25 mm |
| 41. Tagetes du Kenya | ++<br>50 mm | ++ | +++ | +<br>30 mm | +++ | ++ | ++<br>21 mm |
| 42. Thym rouge..... | ++<br>43 mm | + | ++++ | ++ | + | + | +<br>55 mm |
| 43. Vetyver Bourbon.. | ++++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | ++ |
| 44. Vetyver Haïti..... | ++++ | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | +++ |
| 45. Ylang Ylang..... | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | +++ |
| 46. Aldéhyde cinnamique..... | ± | +<br>60 mm | +<br>51 mm | +<br>45 mm | + | ± | +<br>67 mm |
| 47. Carvacrol..... | + | ++++ | ++++ | +++ | +++ | + | 0 |

| Essence 0,02 ml | M. pyogenes var. aureus | E. Coli | Pseudomonas aerugi nosa | Proteus | Streptococcus faecalis | B subtilis (végétatif) | B. subtilis (spores) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 48. Citral de Lemongrass ... | 0 | +++ | +++ | ++ 18 mm | + | 0 | 0 |
| 49. Cymène..... | ++ 35 mm | ++++ | ++++ | ++++ | +++ | + | ++ 25 mm |
| 50. Eugénol..... | +++ | ++++ | ++++ | +++ | ++++ | +++ | +++ |
| 51. Melaleuca..... | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | | + |
| 52. Terpènes de Citron | +++ | +++ | ++++ | ++++ | + | ± | +++ |
| 53. Terpènes de Lemongrass ... | 0 | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | 0 | 0 |
| 54. Thymène..... | +++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++ | ++ 22 mm |
| Phénol..... | ++ 45 mm | + 52 mm | + 55 mm | + 40 mm | ++ | ++ | ++ |
| Formol ..... | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Alcool isopropylique..... | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| Alcool éthylique. . | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### Micrococcus pyogenes var. aureus

*Pousse en milieu de subculture liquide après temps de contact variables.*

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | 5 mn | 10 mn | 30 mn | 1 h | 18 h |
| 1. Amandes amères ... | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 2. Badiane..... | + | + | + | + | + | 0 |
| 3. Bergamote..... | + | + | + | + | + | 0 |
| 4. Bois de Rose Brésil . | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5. Camomille romaine.. | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 6. Camomille bleue .... | + | + | + | + | + | + |
| 7. Camphre..... | + | + | + | + | + | 0 |
| 8. Cannelle de Ceylan.. | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 9. Cannelle de Chine... | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 10. Cèdre Atlas..... | + | + | + | + | + | + |
| 11. Ciste..... | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 12. Citron zeste déterpénée..... | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 13. Citron Californie..... | + | + | + | + | + | 0 |
| 14. Citron Italie..... | + | + | + | + | + | 0 |
| 15. Cyprès..... | + | + | + | + | + | 0 |
| 16. Eucalyptus globulus.. | + | + | + | + | + | 0 |
| 17. Fenouil amer..... | + | + | + | + | + | 0 |
| 18. Genièvre..... | + | + | + | + | + | + |
| 19. Géranium Algérie ... | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 20. Géranium Bourbon.. | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 21. Girofle clous..... | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 22. Girofle feuilles..... | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 23. Lavande..... | + | + | + | + | + | 0 |
| 24. Lavandin Abrialis .. | + | + | + | + | + | 0 |
| 25. Lemongrass..... | + | + | + | + | + | 0 |
| 26. Menthe poivrée d'Amérique..... | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 27. Muscade..... | + | + | + | + | + | + |
| 28. Niaouli..... | + | + | + | + | + | + |
| 29. Orange douce Californie..... | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 30. Orange Guinée..... | + | + | + | + | + | 0 |
| 31. Orange Italie..... | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 32. Palmarosa..... | + | + | + | + | 0 | 0 |

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | 5 mn | 10 mn | 30 mn | 1 h | 18 h |
| 33. Patchouli Singapour | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 34. Petitgrain Bigaradier Paraguay | + | + | + | + | + | + |
| 35. Piment | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 36. Pin sylvestre | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 37. Santal Australie | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 38. Santal Mysore | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 39. Sassafras | + | + | + | + | + | 0 |
| 40. Sauge de Grasse | + | + | + | + | + | 0 |
| 41. Tagetes du Kenya | + | + | + | + | + | + |
| 42. Thym rouge | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 43. Vetyver Bourbon | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 44. Vetyver Haïti | + | + | + | + | + | 0 |
| 45. Ylang Ylang | + | + | + | + | + | + |
| 46. Aldéhyde cinnamique | + | 0 | 0 | 0 | | 0 |
| 47. Carvacrol | + | 0 | 0 | | 0 | 0 |
| 48. Citral de Lemongrass | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 49. Cymène | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 50. Eugénol | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 51. Melaleuca | + | + | + | + | + | + |
| 52. Terpènes de Citron | + | + | + | + | + | 0 |
| 53. Terpènes de Lemongrass | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 54. Thymène | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Phénol | + | + | + | + | 0 | 0 |
| Formol | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Alcool isopropylique | + | + | + | + | + | — |
| Pénicilline (1 unité) | + | | + | 0 | 0 | 0 |

+ = pousse.
— = absence de pousse.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### Escherichia coli

*Pousse en milieu de subculture liquide après temps de contact variables.*

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | 5 mn | 10 mn | 30 mn | 1 h | 18 h |
| 1. Amandes amères ... | + | + | + | + | + | + |
| 2. Badiane..... | + | + | + | + | + | + |
| 3. Bergamote..... | + | + | + | + | + | + |
| 4. Bois de Rose Brésil . | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5. Camomille romaine.. | + | + | + | + | + | + |
| 6. Camomille bleue..... | + | + | + | + | + | + |
| 7. Camphre..... | + | + | + | + | + | + |
| 8. Cannelle de Ceylan.. | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9. Cannelle de Chine... | + | + | + | + | + | + |
| 10. Cèdre Atlas..... | + | + | + | + | + | + |
| 11. Ciste..... | + | + | + | + | + | + |
| 12. Citron zeste déterpénée..... | + | + | + | + | + | + |
| 13. Citron Californie..... | + | + | + | + | + | 0 |
| 14. Citron Italie..... | + | + | + | + | + | + |
| 15. Cyprès..... | + | + | + | + | + | + |
| 16. Eucalyptus globulus.. | + | + | + | + | + | + |
| 17. Fenouil amer..... | + | + | + | + | + | + |
| 18. Genièvre..... | + | + | + | + | + | + |
| 19. Géranium Algérie ... | + | + | + | + | + | + |
| 20. Géranium Bourbon.. | + | + | + | + | + | + |
| 21. Girofle clous..... | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 22. Girofle feuilles..... | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 23. Lavande..... | + | + | + | + | + | + |
| 24. Lavandin Abrialis .. | + | + | + | + | + | + |
| 25. Lemongrass..... | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 26. Menthe poivrée d'Amérique..... | + | + | + | + | + | + |
| 27. Muscade..... | + | + | + | + | + | + |
| 28. Niaouli..... | + | + | + | + | + | + |
| 29. Orange douce Californie..... | + | + | + | + | + | + |
| 30. Orange Guinée..... | + | + | + | + | + | + |
| 31. Orange Italie..... | + | + | + | + | + | + |
| 32. Palmarosa..... | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| Essence 0, 02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | 5 mn | 10 mn | 30 mn | 1 h | 18 h |
| 33. Patchouli Singapour | + | + | + | + | + | + |
| 34. Petitgrain Bigaradier Paraguay | + | + | + | + | + | + |
| 35. Piment | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 36. Pin sylvestre | + | + | + | + | + | + |
| 37. Santal Australie | + | + | + | + | + | + |
| 38. Santal Mysore | + | + | + | + | + | + |
| 39. Sassafras | + | + | + | + | + | + |
| 40. Sauge de Grasse | + | + | + | + | + | + |
| 41. Tagetes du Kenya | + | + | + | + | + | + |
| 42. Thym rouge | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 43. Vetyver Bourbon | + | + | + | + | + | + |
| 44. Vetyver Haïti | + | + | + | + | + | + |
| 45. Ylang Ylang | + | + | + | + | + | + |
| 46. Aldéhyde cinnamique | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 47. Carvacrol | + | + | + | + | + | 0 |
| 48. Citral de Lemongrass | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 49. Cymène | + | + | + | + | + | + |
| 50. Eugénol | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 51. Melaleuca | + | + | + | + | + | + |
| 52. Terpènes de Citron | + | + | + | + | + | + |
| 53. Terpènes de Lemongrass | + | + | + | + | + | + |
| 54. Thymène | + | + | + | + | + | + |
| Phénol | + | + | + | + | + | 0 |
| Formol | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| Alcool isopropylique | + | + | + | + | + | + |
| Pénicilline (1 unité) | + | + | + | + | + | + |

+ = pousse.
— = absence de pousse.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### Pseudomonas aeruginosa

*Pousse en milieu de subculture liquide après temps de contact variables.*

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | 5 mn | 10 mn | 30 mn | 1 h | 18 h |
| 1. Amandes amères ... | + | + | + | + | + | 0 |
| 2. Badiane..... | + | + | + | + | + | + |
| 3. Bergamote..... | + | + | + | + | + | + |
| 4. Bois de Rose Brésil . | + | + | + | + | + | + |
| 5. Camomille romaine.. | + | + | + | + | + | + |
| 6. Camomille bleue..... | + | + | + | + | + | + |
| 7. Camphre..... | + | + | + | + | + | + |
| 8. Cannelle de Ceylan.. | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9. Cannelle de Chine... | + | + | + | + | + | 0 |
| 10. Cèdre Atlas..... | + | + | + | + | + | + |
| 11. Ciste..... | + | + | + | + | + | + |
| 12. Citron zeste déterpénée..... | + | + | + | + | + | + |
| 13. Citron Californie..... | + | + | + | + | + | + |
| 14. Citron Italie..... | + | + | + | + | + | + |
| 15. Cyprès..... | + | + | + | + | + | + |
| 16. Eucalyptus globulus.. | + | + | + | + | + | + |
| 17. Fenouil amer..... | + | + | + | + | + | + |
| 18. Genièvre..... | + | + | + | + | + | + |
| 19. Géranium Algérie ... | + | + | + | + | + | + |
| 20. Géranium Bourbon.. | + | + | + | + | + | + |
| 21. Girofle clous..... | + | + | + | + | + | + |
| 22. Girofle feuilles..... | + | + | + | + | + | + |
| 23. Lavande..... | + | + | + | + | + | + |
| 24. Lavandin Abrialis .. | + | + | + | + | + | + |
| 25. Lemongrass..... | + | + | + | + | + | + |
| 26. Menthe poivrée d'Amérique..... | + | + | + | + | + | + |
| 27. Muscade..... | + | + | + | + | + | + |
| 28. Niaouli..... | + | + | + | + | + | + |
| 29. Orange douce Californie..... | + | + | + | + | + | + |
| 30. Orange Guinée..... | + | + | + | + | + | + |
| 31. Orange Italie..... | + | + | + | + | + | + |
| 32. Palmarosa..... | + | + | + | + | + | + |

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | 5 mn | 10 mn | 30 mn | 1 h | 18 h |
| 33. Patchouli Singapour | + | + | + | + | + | + |
| 34. Petitgrain Bigaradier Paraguay | + | + | + | + | + | + |
| 35. Piment | + | + | + | + | + | + |
| 36. Pin sylvestre | + | + | + | + | + | + |
| 37. Santal Australie | + | + | + | + | + | + |
| 38. Santal Mysore | + | + | + | + | + | + |
| 39. Sassafras | + | + | + | + | + | + |
| 40. Sauge de Grasse | + | + | + | + | + | + |
| 41. Tagetes du Kenya | + | + | + | + | + | + |
| 42. Thym rouge | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 43. Vetyver Bourbon | + | + | + | + | + | + |
| 44. Vetyver Haïti | + | + | + | + | + | + |
| 45. Ylang Ylang | + | + | + | + | + | + |
| 46. Aldéhyde cinnamique | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 47. Carvacrol | + | + | + | + | + | + |
| 48. Citral de Lemongrass | + | + | + | + | + | + |
| 49. Cymène | + | + | + | + | + | + |
| 50. Eugénol | + | + | + | + | | |
| 51. Melaleuca | + | + | + | + | + | + |
| 52. Terpènes de Citron | + | + | + | + | + | + |
| 53. Terpènes de Lemongrass | + | + | + | + | + | + |
| 54. Thymène | + | + | + | + | + | + |
| Phénol | + | + | + | + | 0 | 0 |
| Formol | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Alcool isopropylique | + | + | + | + | + | + |
| Pénicilline (1 unité) | + | + | + | + | + | + |

+ = pousse
— = absence de pousse.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### Proteus vulgaris

*Pousse en milieu de subculture liquide après temps de contact variables.*

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | 5 mn | 10 mn | 30 mn | 1 h | 18 h |
| 1. Amandes amères ... | + | + | + | + | + | 0 |
| 2. Badiane ..... | + | + | + | + | + | + |
| 3. Bergamote ..... | + | + | + | + | + | + |
| 4. Bois de Rose Brésil . | + | + | + | + | + | 0 |
| 5. Camomille romaine.. | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 6. Camomille bleue .... | + | + | + | + | + | + |
| 7. Camphre ..... | + | + | + | + | + | + |
| 8. Cannelle de Ceylan.. | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9. Cannelle de Chine... | + | + | + | + | + | + |
| 10. Cèdre Atlas..... | + | + | + | + | + | + |
| 11. Ciste..... | + | + | + | + | + | + |
| 12. Citron zeste déterpénée..... | + | + | + | + | + | 0 |
| 13. Citron Californie..... | + | + | + | + | + | + |
| 14. Citron Italie..... | + | + | + | + | + | + |
| 15. Cyprès..... | + | + | + | + | + | + |
| 16. Eucalyptus globulus.. | + | + | + | + | + | + |
| 17. Fenouil amer..... | + | + | + | + | + | + |
| 18. Genièvre..... | + | + | + | + | + | + |
| 19. Géranium Algérie ... | + | + | + | + | + | + |
| 20. Géranium Bourbon.. | + | + | + | + | + | + |
| 21. Girofle clous..... | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 22. Girofle feuilles..... | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 23. Lavande..... | + | + | + | + | + | + |
| 24. Lavandin Abrialis .. | + | + | + | + | + | + |
| 25. Lemongrass..... | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 26. Menthe poivrée d'Amérique..... | + | + | + | + | + | + |
| 27. Muscade..... | + | + | + | + | + | + |
| 28. Niaouli..... | + | + | + | + | + | + |
| 29. Orange douce Californie..... | + | + | + | + | + | + |
| 30. Orange Guinée..... | + | + | + | + | + | + |
| 31. Orange Italie..... | + | + | + | + | + | + |
| 32. Palmarosa..... | + | + | + | + | + | + |

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | 5 mn | 10 mn | 30 mn | 1 h | 18 h |
| 33. Patchouli Singapour | + | + | + | + | + | + |
| 34. Petitgrain Bigaradier Paraguay | + | + | + | + | + | + |
| 35. Piment | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 36. Pin sylvestre | + | + | + | + | + | 0 |
| 37. Santal Australie | + | + | + | + | + | + |
| 38. Santal Mysore | + | + | + | + | + | + |
| 39. Sassafras | + | + | + | + | + | + |
| 40. Sauge de Grasse | + | + | + | + | + | + |
| 41. Tagetes du Kenya | + | + | + | + | + | 0 |
| 42. Thym rouge | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 43. Vetyver Bourbon | + | + | + | + | + | + |
| 44. Vetyver Haïti | + | + | + | + | + | + |
| 45. Ylang Ylang | + | + | + | + | + | + |
| 46. Aldéhyde cinnamique | + | + | + | + | + | 0 |
| 47. Carvacrol | + | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 48. Citral de Lemongrass | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 49. Cymène | + | + | + | + | + | + |
| 50. Eugénol | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 51. Melaleuca | + | + | + | + | + | + |
| 52. Terpènes de Citron | + | + | + | + | + | 0 |
| 53. Terpènes de Lemongrass | + | + | + | + | + | + |
| 54. Thymène | + | + | + | + | + | + |
| Phénol | + | + | + | + | + | 0 |
| Formol | + | + | + | + | 0 | 0 |
| Alcool isopropylique | + | + | + | + | + | + |
| Pénicilline (1 unité) | + | + | + | + | + | + |

+ = pousse.
— = absence de pousse.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### Streptococcus faecalis

*Pousse en milieu de subculture liquide après temps de contact variables.*

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | 5 mn | 10 mn | 30 mn | 1 h | 18 h |
| 1. Amandes amères ... | + | + | + | + | + | + |
| 2. Badiane..... | + | + | + | + | + | + |
| 3. Bergamote..... | + | + | + | + | + | + |
| 4. Bois de Rose Brésil . | + | + | + | + | + | + |
| 5. Camomille romaine.. | + | + | + | + | + | + |
| 6. Camomille bleue..... | + | + | + | + | + | + |
| 7. Camphre..... | + | + | + | + | + | + |
| 8. Cannelle de Ceylan.. | + | + | + | + | + | + |
| 9. Cannelle de Chine... | + | + | + | + | + | + |
| 10. Cèdre Atlas..... | + | + | + | + | + | + |
| 11. Ciste..... | + | + | + | + | + | + |
| 12. Citron zeste déterpénée..... | + | + | + | + | + | + |
| 13. Citron Californie..... | + | + | + | + | + | + |
| 14. Citron Italie..... | + | + | + | + | + | + |
| 15. Cyprès..... | + | + | + | + | + | + |
| 16. Eucalyptus globulus.. | + | + | + | + | + | + |
| 17. Fenouil amer..... | + | + | + | + | + | + |
| 18. Genièvre..... | + | + | + | + | + | + |
| 19. Géranium Algérie ... | + | + | + | + | + | + |
| 20. Géranium Bourbon.. | + | + | + | + | + | + |
| 21. Girofle clous..... | + | + | + | + | + | + |
| 22. Girofle feuilles..... | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 23. Lavande..... | + | + | + | + | + | + |
| 24. Lavandin Abrialis .. | + | + | + | + | + | + |
| 25. Lemongrass..... | + | + | + | + | + | + |
| 26. Menthe poivrée d'Amérique..... | + | + | + | + | + | + |
| 27. Muscade..... | + | + | + | + | + | + |
| 28. Niaouli..... | + | + | + | + | + | + |
| 29. Orange douce Californie..... | + | + | + | + | + | + |
| 30. Orange Guinée..... | + | + | + | + | + | + |
| 31. Orange Italie..... | + | + | + | + | + | + |
| 32. Palmarosa..... | + | + | + | + | + | + |

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | 5 mn | 10 mn | 30 mn | 1 h | 18 h |
| 33. Patchouli Singapour | + | + | + | + | + | + |
| 34. Petitgrain Bigaradier Paraguay | + | + | + | + | + | + |
| 35. Piment | + | + | + | + | + | + |
| 36. Pin sylvestre | + | + | + | + | + | + |
| 37. Santal Australie | + | + | + | + | + | + |
| 38. Santal Mysore | + | + | + | + | + | + |
| 39. Sassafras | + | + | + | + | + | + |
| 40. Sauge de Grasse | + | + | + | + | + | + |
| 41. Tagetes du Kenya | + | + | + | + | + | + |
| 42. Thym rouge | + | + | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 43. Vetyver Bourbon | + | + | + | + | + | + |
| 44. Vetyver Haïti | + | + | + | + | + | + |
| 45. Ylang Ylang | + | + | + | + | + | + |
| 46. Aldéhyde cinnamique | + | + | + | 0 | 0 | 0 |
| 47. Carvacrol | + | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 48. Citral de Lemongrass | + | + | + | + | 0 | 0 |
| 49. Cymène | + | + | + | + | + | + |
| 50. Eugénol | + | + | + | + | + | + |
| 51. Melaleuca | + | + | + | + | + | + |
| 52. Terpènes de Citron | + | + | + | + | + | + |
| 53. Terpènes de Lemongrass | + | + | + | + | + | + |
| 54. Thymène | + | + | + | + | + | + |
| Phénol | + | + | + | + | + | + |
| Formol | + | + | + | + | + | + |
| Alcool isopropylique | + | + | + | + | + | + |
| Pénicilline (1 unité) | + | + | + | + | + | + |

+ = pousse.
— = absence de pousse.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### *Bacillus subtilis* (spores)

*Comparaison de la pousse :*

1° En milieu de subculture liquide (**L**) après temps de contact variables.

2° En milieu de subculture solide (**S**) avec numération du % de germes survivants après temps de contact variables.

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | | 5 mn | | 10 mn | | 30 mn | | 1 h | | 18 h | |
| | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S |
| 1. Amandes amères | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 2. Badiane | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | <1 | + | <1 |
| 3. Bergamote | + | 100 | + | 10 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 1 |
| 4. Bois de Rose Brésil | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 |
| 5. Camomille romaine | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 6. Camomille bleue | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 7. Camphre | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 |
| 8. Cannelle de Ceylan | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 9. Cannelle de Chine | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 |
| 10. Cèdre Atlas | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 11. Ciste | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 12. Citron zeste déterpénée | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 13. Citron Californie | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | <1 |
| 14. Citron Italie | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 |
| 15. Cyprès | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 1 | + | 1 |
| 16. Eucalyptus globulus | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 17. Fenouil amer | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 18. Genièvre | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 19. Géranium Algérie | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 20. Géranium Bourbon | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 21. Girofle clous | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 22. Girofle feuilles | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 23. Lavande | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 24. Lavandin Abrialis | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 25. Lemongrass | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | | 5 mn | | 10 mn | | 30 mn | | 1 h | | 18 h | |
| | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S |
| 26. Menthe poivrée d'Amérique | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 27. Muscade | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 28. Niaouli | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 29. Orange douce de Californie | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 30. Orange Guinée | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 31. Orange Italie | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 32. Palmarosa | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 33. Patchouli Singapour | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 34. Petitgrain Bigaradier Paraguay | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 35. Piment | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 36. Pin sylvestre | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 37. Santal Australie | + | 100 | + | 10 | + | 1 | + | 1 | + | 1 | + | 1 |
| 38. Santal Mysore | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 39. Sassafras | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 40. Sauge de Grasse | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 41. Tagetes du Kenya | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 42. Thym rouge | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 43. Vetyver Bourbon | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 44. Vetyver Haïti | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 45. Ylang Ylang | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 46. Aldéhyde cinnamique | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 47. Carvacrol | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 48. Citral de Lemongrass | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 1 |
| 49. Cymène | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 50. Eugénol | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 1 | + | 1 |
| 51. Melaleuca | + | 100 | + | 10 | + | 10 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 52. Terpènes de Citron | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 |
| 53. Terpènes de Lemongrass | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 54. Thymène | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 |
| Phénol | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| Formol | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 |
| Alcool isopropylique | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| Pénicilline (1 unité) | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |

+ = pousse
— = absence de pousse.

Les chiffres indiquent le % de germes survivants.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### Bacillus subtilis (spores)

*Comparaison de la pousse :*

1° En milieu de subculture liquide (L) après temps de contact variables.

2° En milieu de subculture solide (S) avec numération du % de germes survivants après temps de contact variables.

| Essence 0,04 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | | 5 mn | | 10 mn | | 30 mn | | 1 h | | 18 h | |
| | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S |
| 1. Amandes amères ... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | <1 | + | <1 |
| 2. Badiane..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 3. Bergamote..... | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 1 |
| 4. Bois de Rose Brésil . | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 |
| 5. Camomille romaine.. | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 6. Camomille bleue..... | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 7. Camphre..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | — | 0 | — | 0 |
| 8. Cannelle de Ceylan.. | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 9. Cannelle de Chine... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 |
| 10. Cèdre Atlas..... | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | | + | 10 |
| 11. Ciste..... | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 12. Citron zeste déterpénée..... | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 13. Citron Californie..... | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 1 |
| 14. Citron Italie..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 1 |
| 15. Cyprès..... | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 1 | + | 1 |
| 16. Eucalyptus globulus.. | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 17. Fenouil amer..... | + | 10 | + | 10 | + | 1 | + | <1 | + | <1 | + | <1 |
| 18. Genièvre..... | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 19. Géranium Algérie ... | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | — | 0 | — | 0 |
| 20. Géranium Bourbon.. | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 21. Girofle clous..... | + | 1 | + | 1 | + | 1 | + | 1 | — | | — | 0 |
| 22. Girofle feuilles..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 23. Lavande..... | + | 10 | + | 1 | + | <1 | + | <1 | — | 0 | — | 0 |
| 24. Lavandin Abrialis .. | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | <1 | + | <1 |
| 25. Lemongrass..... | + | 10 | + | 10 | + | 1 | + | <1 | — | 0 | — | 0 |

| Essence 0,04 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | | 5 mn | | 10 mn | | 30 mn | | 1 h | | 18 h | |
| | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S |
| 26. Menthe poivrée d'Amérique | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 27. Muscade | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 28. Niaouli | + | 10 | + | 10 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 29. Orange douce de Californie | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 30. Orange Guinée | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 31. Orange Italie | + | 100 | + | 10 | + | 1 | + | <1 | + | <1 | + | <1 |
| 32. Palmarosa | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 33. Patchouli Singapour | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 1 | + | 1 | + | 1 |
| 34. Petitgrain Bigaradier Paraguay | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 35. Piment | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 36. Pin sylvestre | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 37. Santal Australie | + | <1 | + | <1 | + | <1 | + | <1 | + | <1 | + | <1 |
| 38. Santal Mysore | + | 1 | + | 1 | + | 1 | + | 1 | + | 1 | + | 1 |
| 39. Sassafras | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 40. Sauge de Grasse | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 41. Tagetes du Kenya | + | 10 | + | 10 | + | 1 | + | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 42. Thym rouge | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 43. Vetyver Bourbon | + | 10 | + | 10 | + | 1 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 44. Vetyver Haïti | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 45. Ylang Ylang | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | <1 |
| 46. Aldéhyde cinnamique | + | 1 | + | 1 | + | 1 | + | 1 | + | 1 | + | <1 |
| 47. Carvacrol | + | 10 | + | 1 | + | <1 | + | <1 | — | 0 | — | 0 |
| 48. Citral de Lemongrass | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 1 |
| 49. Cymène | + | 10 | + | 10 | + | 1 | + | 1 | + | 1 | + | 1 |
| 50. Eugénol | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 |
| 51. Melaleuca | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 52. Terpènes de Citron | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 |
| 53. Terpènes de Lemongrass | + | 1 | + | 1 | + | 1 | + | 1 | — | 0 | — | 0 |
| 54. Thymène | + | 100 | + | 10 | + | 1 | + | 1 | + | 1 | + | 1 |
| Phénol | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 1 | + | 1 |
| Formol | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 | — | 0 |
| Alcool isopropylique | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |

+ = pousse.
— = absence de pousse.

Les chiffres indiquent le % de germes survivants.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### Micrococcus pyogenes aureus

*Comparaison de la pousse :*

1° En milieu de subculture liquide (**L**) après temps de contact variables.

2° En milieu de subculture solide (**S**) avec numération du % de germes survivants après temps de contact variables.

| Essence 0,01 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | | 5 mn | | 10 mn | | 30 mn | | 1 h | | 18 h | |
| | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S |
| 8. Cannelle Ceylan.... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 |
| 16. Eucalyptus globulus | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 |
| 23. Lavande..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 24. Lavandin abrialis... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 |
| 25. Lemongrass..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | — | 0 |
| 26. Menthe poivrée Amérique..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 |
| 36. Pin sylvestre..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 0,1 |
| 42. Thym rouge..... | + | 100 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| Phénol..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 |
| Formol..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 |

pousse.

absence de pousse.

Les chiffres indiquent le % de germes survivants.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### Micrococcus pyogenes aureus

*Comparaison de la pousse :*

1° En milieu de subculture liquide (**L**) après temps de contact variables.

2° En milieu de subculture solide (**S**) avec numération du % de germes survivants après temps de contact variables.

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | | 5 mn | | 10 mn | | 30 mn | | 1 h | | 18 h | |
| | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S |
| 8. Cannelle Ceylan.... | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 16. Eucalyptus globulus | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 |
| 23. Lavande..... | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 |
| 24. Lavandin abrialis... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | — | 0 |
| 25. Lemongrass..... | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 1 | — | 0 |
| 26. Menthe poivrée Amérique..... | + | 100 | + | 10 | + | 10 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 36. Pin sylvestre..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | — | 0 | — | 0 |
| 42. Thym rouge..... | + | 0,1 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| Phénol..... | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 | — | 0 |
| Formol..... | + | 100 | + | 10 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |

\+ = pousse.

— = absence de pousse.

Les chiffres indiquent le % de germes survivants.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### *Micrococcus pyogenes aureus*

*Comparaison de la pousse :*

1° En milieu de subculture liquide (**L**) après temps de contact variables.

2° En milieu de subculture solide (**S**) avec numération du % de germes survivants après temps de contact variables.

| Essence 0,04 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | | 5 mn | | 10 mn | | 30 mn | | 1 h | | 18 h | |
| | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S |
| 8. Cannelle Ceylan.... | + | 10 | + | 1 | + | 1 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 16. Eucalyptus globulus | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 |
| 23. Lavande..... | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | — | 0 |
| 24. Lavandin abrialis... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 1 | + | 1 | — | 0 |
| 25. Lemongrass..... | + | 100 | + | 0,1 | + | 1 | + | 1 | — | 0 | — | 0 |
| 26. Menthe poivrée Amérique..... | + | 100 | + | 1 | + | 1 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 36. Pin sylvestre..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | — | 0 | — | 0 |
| 42. Thym rouge..... | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| Phénol..... | + | 100 | + | 1 | + | 1 | + | 1 | — | 0 | — | 0 |
| Formol..... | + | 100 | + | 1 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |

+ = pousse.

— = absence de pousse.

Les chiffres indiquent le % de germes survivants.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### Micrococcus pyogenes aureus

*Comparaison de la pousse :*

1° En milieu de subculture liquide (**L**) après temps de contact variables.

2° En milieu de subculture solide (**S**) avec numération du % de germes survivants après temps de contact variables.

| Essence 0,05 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | | 5 mn | | 10 mn | | 30 mn | | 1 h | | 18 h | |
| | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S |
| 8. Cannelle Ceylan ... | | 10 | + | 1 | + | 0,1 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 16. Eucalyptus globulus | | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 1 | — | 0 |
| 23. Lavande ..... | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 1 | — | 0 |
| 24. Lavandin abrialis .. | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 0,1 | + | 0,1 | — | 0 |
| 25. Lemongrass ..... | + | 100 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 26. Menthe poivrée Amérique ..... | + | 100 | + | 0,1 | + | 0,1 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 36. Pin sylvestre ..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | — | 0 | — | 0 |
| 42. Thym rouge ..... | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| Phénol ..... | + | 1 | + | 0,1 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| Formol ..... | + | 10 | + | 0,1 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |

\+ pousse

— = absence de pousse.

Les chiffres indiquent le % de germes survivants.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### *Escherichia coli*

*Comparaison de la pousse :*

1° En milieu de subculture liquide (**L**) après temps de contact variables.

2° En milieu de subculture solide (**S**) avec numération du % de germes survivants après temps de contact variables.

| Essence 0,01 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | | 5 mn | | 10 mn | | 30 mn | | 1 h | | 18 h | |
| | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S |
| 8. Cannelle Ceylan.... | + | 100 | | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | — | 0 |
| 16. Eucalyptus globulus | | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 23. Lavande..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 24. Lavandin abrialis... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 25. Lemongrass..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | — | 0 |
| 26. Menthe poivrée Amérique..... | + | 100 | | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 36. Pin sylvestre..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 42. Thym rouge..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | — | 0 | — | 0 |
| Phénol..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | — | 0 |
| Formol..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | | 100 | + | 10 | — | 0 |

\+ = pousse.

— = absence de pousse.

Les chiffres indiquent le % de germes survivants.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### *Escherichia coli*

*Comparaison de la pousse :*

1° En milieu de subculture liquide (**L**) après temps de contact variables.

2° En milieu de subculture solide (**S**) avec numération du % de germes survivants après temps de contact variables.

| Essence 0,02 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | | 5 mn | | 10 mn | | 30 mn | | 1 h | | 18 h | |
| | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S |
| 8. Cannelle Ceylan.... | + | 100 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 16. Eucalyptus globulus | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 23. Lavande..... | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 100 |
| 24. Lavandin abrialis... | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 1 | + | 0,1 | + | 100 |
| 25. Lemongrass..... | + | 100 | + | 0,01 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 26. Menthe poivrée Amérique..... | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 1 | + | 1 | + | 100 |
| 36. Pin sylvestre..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 |
| 42. Thym rouge..... | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| Phénol..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | — | 0 |
| Formol..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |

+ = pousse.

— = absence de pousse.

Les chiffres indiquent le % de germes survivants.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### *Escherichia coli*

*Comparaison de la pousse :*

1° En milieu de subculture liquide (**L**) après temps de contact variables.

2° En milieu de subculture solide (**S**) avec numération du % de germes survivants après temps de contact variables.

| Essence 0,04 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | | 5 mn | | 10 mn | | 30 mn | | 1 h | | 18 h | |
| | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S |
| 8. Cannelle Ceylan.... | + | 100 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 16. Eucalyptus globulus | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 100 |
| 23. Lavande..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 0,1 | + | 100 |
| 24. Lavandin abrialis... | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 1 | + | 0,1 | + | 100 |
| 25. Lemongrass..... | + | 10 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 26. Menthe poivrée Amérique..... | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 0,01 | + | 0,01 | + | 100 |
| 36. Pin sylvestre..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 |
| 42. Thym rouge..... | + | 10 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| Phénol..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 100 | — | 0 |
| Formol..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |

+ = pousse.

— = absence de pousse.

Les chiffres indiquent le % de germes survivants.

## POUVOIR BACTÉRICIDE EN BOUILLON

### *Escherichia coli*

*Comparaison de la pousse :*

1° En milieu de subculture liquide (**L**) après temps de contact variables.

2° En milieu de subculture solide (**S**) avec numération du % de germes survivants après temps de contact variables.

| Essence 0,05 ml | TEMPS DE CONTACT | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 mn | | 5 mn | | 10 mn | | 30 mn | | 1 h | | 18 h | |
| | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S | L | S |
| 8. Cannelle Ceylan.... | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 16. Eucalyptus globulus | + | 100 | + | 10 | + | 0,1 | + | 0,1 | + | 0,01 | + | 100 |
| 23. Lavande..... | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 0,1 | + | |
| 24. Lavandin abrialis... | + | 100 | + | 10 | + | 0,1 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 25. Lemongrass..... | + | 10 | + | 0,1 | + | 0,01 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| 26. Menthe poivrée Amérique..... | + | 10 | + | 10 | + | 10 | + | 0,01 | + | 0,01 | + | |
| 36. Pin sylvestre..... | + | 100 | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | — | 0 |
| 42. Thym rouge..... | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |
| Phénol..... | + | 100 | + | 100 | + | 10 | + | 10 | + | 0,01 | — | 0 |
| Formol..... | + | 10 | + | 10 | + | 0,1 | — | 0 | — | 0 | — | 0 |

\+ = pousse

— = absence de pousse.

Les chiffres indiquent le % de germes survivants.

# IV

# Interprétation des résultats

L'étude critique des tableaux précédents fait apparaître les points suivants :

a) Les résultats obtenus avec l'une des méthodes d'exploration que nous avons utilisées recoupent généralement de façon très satisfaisante ceux des deux autres méthodes.

Autrement dit, à part certains cas particuliers, les pouvoirs bactériostatiques par diffusion en gelose ou par vaporisation en microatmosphère et le pouvoir bactéricide en bouillon sont parallèles pour la plupart des essences les plus actives.

La confrontation des résultats des trois techniques permet d'apprécier *globalement* non seulement l'activité générale d'une essence mais aussi sa rapidité d'action et l'étendue de son « spectre » antimicrobien.

Dans ces conditions on constate la supériorité de l'essence de cannelle de Ceylan et de l'aldéhyde cinnamique.

A côté on peut classer parmi les plus actives l'essence de thym rouge d'abord et aussi les essences de cannelle de Chine, d'amandes amères, de citron (zeste déterpénée) de girofle feuilles, de pin sylvestre, de tagètes du Kenya, le carvacrol et le citral de Lemongrass.

Toutes ces essences ont une activité certes inférieure à celle du formol ; mais leur pouvoir antimicrobien se révèle être du même ordre de grandeur que celui du phenol.

b) Toutefois étant donné les différentes conditions expérimentales, les méthodes utilisées explorent chacune des qualités particulières de l'essence considérée : *diffusion*, *vaporisation*, *pouvoir bactéricide* qui peuvent dans certains cas faire diverger les résultats et qui d'autre part peuvent être intéressantes à retenir dans certains buts particuliers.

Par exemple les essences les plus *diffusibles* paraissent être entre autres, le lavandin abrialis, la menthe poivrée d'Amérique, la lavande et le carvacrol.

Les essences les plus actives par *vaporisation* paraissent être cannelle de Ceylan et de Chine, aldhéhyde cinnamique, tagetes du Kenya, thym rouge et sassafras.

Certaines essences manifestent, pour certains germes, un effet bactériostatique intense mais par contre aucun pouvoir bactéricide.

C'est par exemple le cas du lemongrass pour le staphylocoque ; de la cannelle de Chine pour le proteus et le colibacille ; du citron (zeste déterpéné) pour l'entérocoque.

On voit donc dans ces conditions que l'activité globale d'une essence n'apparaît pas comme un critère de choix suffisant et qu'il faut faire intervenir les qualités particulières que l'on en attendra :

C'est ainsi que pour l'assainissement de l'atmosphère on aura intérêt à retenir une essence de bonne activité par vaporisation et ayant un effet bactéricide rapide, spécialement important pour la désinfection préventive.

Mais un dernier point reste déterminant dans le choix définitif : c'est la question du type de germe que l'on cherche à atteindre.

*c*) En effet l'étude que nous avons faite nous a persuadés de la spécificité d'action des diverses essences selon le germe test.

*Micrococcus pyrogenes* var. *aureus*

Ce germe s'est montré dans nos expériences le plus sensible aux essences.

On peut dire qu'un grand nombre d'essences ont développé envers ce germe une activité très intéressante tant du point de vue bactériostatique que du point de vue bactéricide.

Nous en donnons le tableau ci-après :

## Micrococcus pyogenes var. aureus

| | Diamètre du cercle d'inhibition en mm | Pousse en micro-atmosphère | Début de l'action bactéricide |
|---|---|---|---|
| Phénol | 56 | ++ (45) | 60 mn |
| Formol | 100 | 0 | 10 mn |
| Alcool isopropylique | 0 | ++++ | > 18 h |
| Alcool éthylique | 0 | ++++ | > 18 h |
| Pénicilline 0,50 U.O | 40 | ++++ | 30 mn |
| 48. Citral de lemongrass | 100 | 0 | 10 mn |
| 53. Terpènes de lemongrass | 100 | 0 | 30 mn |
| 12. Citron zeste déterpéné | 100 | 0 | 30 mn |
| 25. Lemongrass | 100 | 0 | 18 h |
| 8. Cannelle Ceylan | 72 | + | 30 mn |
| 9. Cannelle Chine | 70 | ++ (52) | 30 mn |
| 46. Aldéhyde cinnamique | 67 | ± | 5 mn |
| 47. Carvacrol | 66 | + | 5 mn |
| 4. Bois de Rose Brésil | 62 | ++ (40) | 10 mn |
| 42. Thym rouge | 59 | ++ (43) | 5 mn |
| 24. Lavandin abrialis | 55 | +++ | 18 h |
| 26. Menthe poivrée Amérique | 45 | +++ | 30 mn |
| 2. Badiane | 35 | ++++ | 18 h |
| 49. Cymène | 34 | ++ (35) | 60 mn |
| 36. Pin sylvestre | 30 | ++ | 18 h |
| 23. Lavande | 30 | ++++ | 18 h |
| 50. Eugénol | 29 | +++ | 5 mn |
| 32. Palmarosa | 29 | +++ | 60 mn |
| 34. Petitgrain | 28 | + | > 18 h |
| 22. Girofle (feuilles) | 28 | +++ | 30 mn |
| 11. Ciste | 28 | ++ (40) | 60 mn |
| 35. Piment | 28 | +++ | 60 mn |
| 41. Tagetes | 27 | ++ (50) | > 18 h |
| 54. Thymène | 26 | +++ | 10 mn |
| 21. Girofle clou | 26 | +++ | 30 mn |
| 5. Camomille romaine | 25 | +++ | 60 mn |
| 51. Melaleuca | 25 | ++++ | > 18 h |
| 20. Géranium Bourbon | 23 | ± | 30 mn |
| 15. Cyprès | 22 | +++ | 18 h |

(Les chiffres entre parenthèses de la colonne 2 indiquent le diamètre de la « cloche » d'inhibition, lorsqu'elle existe).

Par contre un certain nombre d'essences n'ont montré qu'une activité nulle envers ce germe. Citons :

Terpènes de citron — Camphre — Orange Guinée et Italie.

Ainsi, si l'on se propose surtout une action antistaphylococcique, on aura intérêt à retenir tout spécialement :

Les citral et terpènes de lemongrass ; ou l'essence de lemongrass elle-même, l'essence de zeste de citron déterpénée, les essences de cannelle de Ceylan ou de Chine, l'aldéhyde cinnamique ou le carvacrol.

*Streptococcus faecalis*

D'une manière générale ce germe s'est montré plus résistant que le staphylocoque.

Cependant certaines essences se montrent douées d'une bonne activité.

Nous les indiquons sur le tableau ci-après.

**Streptococcus faecalis**

| | Diamètre du cercle d'inhibition en mm | Pousse en micro-atmosphère | Début de l'action bactéricide |
|---|---|---|---|
| Phénol | 24 | ++ | > 18 h |
| Formol | 100 | 0 | > 18 h |
| Alcool isopropylique | 0 | ++++ | > 18 h |
| Alcool éthylique | 0 | ++++ | > 18 h |
| 48. Citral de lemongrass | 41 | + | 60 mn |
| 47. Carvacrol | 34 | +++ | 5 mn |
| 42. Thym rouge | 33 | + | 10 mn |
| 12. Citron zeste déterpénée | 31 | + | > 18 h |
| 8. Cannelle Ceylan | 25 | + | > 18 h |
| 9. Cannelle Chine | 25 | +++ | > 18 h |
| 25. Lemongrass | 25 | +++ | > 18 h |

Semblent par contre inactives des essences telles que celles d'orange Guinée ou Italie, eucalyptus, camomille bleue, camphre, badiane, bergamote, etc.

Ainsi en se référant à l'action contre le *Streptococcus faecalis* est on amené à retenir tout particulièrement :

Carvacrol, essence de thym rouge dont on notera la rapidité d'action et le pouvoir bactéricide et

Citral de lemongrass d'action moins rapide mais plus intense.

*Escherichia coli.*

Ce germe oppose déja une résistance plus grande.

Cependant ainsi qu'on peut le voir sur le tableau ci-après, il est possible de détecter un certain nombre d'essences actives sur ce germe :

**Escherichia coli**

| | Diamètre du cercle d'inhibition en mm | Pousse en micro-atmosphère | Début de l'action bactéricide |
|---|---|---|---|
| Phénol | 30 | + (52) | 18 h |
| Formol | 81 | 0 | 30 mn |
| Alcool isopropylique | 0 | ++++ | > 18 h |
| Alcool éthylique | 14 | ++++ | |
| 26. Menthe poivrée Amérique | 60 | +++ | > 18 h |
| 20. Géranium Bourbon | 55 | ++++ | > 18 h |
| 9. Cannelle Chine | 45 | ++ (55) | > 18 h |
| 46. Aldéhyde cinnamique | 44 | + (60) | 30 mn |
| 8. Cannelle Ceylan | 32 | ++ | 5 mn |
| 36. Pin sylvestre | 29 | +++ | > 18 h |
| 35. Piment | 26 | +++ | 10 mn |
| 50. Eugénol | 21 | ++++ | 30 mn |
| 41. Tagetes Kenya | 21 | ++ | > 18 h |
| 1. Amandes amères | 20 | +++ | > 18 h |
| 47. Carvacrol | 20 | ++++ | > 18 h |

(Les chiffres entre parenthèses de la colonne 2 indiquent le diamètre de la « cloche » d'inhibition, lorsqu'elle existe).

Nous retiendrons tout spécialement ici en raison de leur rapide action bactéricide sur *E. coli :*

L'aldéhyde cinnamique et la cannelle de Ceylan.

*Proteus vulgaris*

Ce germe s'est montré également très résistant. Toutefois certaines essences sont susceptibles d'agir sur lui et développent à son égard une action bactéricide rapide comme on le voit sur le tableau ci-après :

**Proteus vulgaris**

| | Diamètre du cercle d'inhibition en mm | Pousse en micro-atmosphère | Début de l'action bactéricide |
|---|---|---|---|
| Phénol | 34 | + (40) | 18 h |
| Formol | 70 | 0 | 60 mn |
| Alcool isopropylique | 0 | ++++ | > 18 h |
| Alcool éthylique | 16 | ++++ | |
| 46. Aldéhyde cinnamique | 36 | + (45) | 60 mn |
| 21. Girofle clous | 30 | ++++ | 30 mn |
| 8. Cannelle Ceylan | 27 | + (33) | 5 mn |
| 9. Cannelle Chine | 25 | + (30) | > 18 h |
| 41. Tagetes Kenya | 25 | + (30) | 5 mn |

(Les chiffres entre parenthèses de la colonne 2 indiquent le diamètre de la « cloche » d'inhibition, lorsqu'elle existe).

*Pseudomonas aeruginosa*

Le pyocyanique apparaît comme l'un des germes les plus résistants à l'action des essences dans nos conditions expérimentales, puisque en pratique seule l'aldéhyde cinnamique a montré une action bactériostatique et bactéricide intéressante.

**Pseudomonas aeruginosa**

| | Diamètre du cercle d'inhibition en mm | Pousse en micro-atmosphère | Début de l'action bactéricide |
|---|---|---|---|
| Phénol | 27 | + (55) | 60 mn |
| Formol | 68 | 0 | 5 mn |
| Alcool isopropylique | 0 | ++++ | — |
| Alcool éthylique | 0 | ++++ | ? |
| 46. Aldéhyde cinnamique | 34 | + (51) | 60 mn |
| 9. Cannelle Chine | 33 | +++ (12) | 18 h |
| 36. Pin sylvestre | 22 | ++++ | > 18 h |

(Les chiffres entre parenthèses de la colonne 2 indiquent le diamètre de la « cloche » d'inhibition, lorsqu'elle existe).

*Spores de Bacillus subtilis*

Le *B. subtilis* pose un problème particulier du fait de l'existence de la forme sporulée à côté de la forme végétative.

Nous n'avons retenu dans nos résultats, que ceux obtenus avec les spores : en effet d'une part la forme végétative n'est jamais totalement exempte de spores et, d'autre part dans la lutte contre les germes de ce type, c'est évidemment l'atteinte des spores qui est la plus difficile, mais qui a le plus d'importance.

Etant donné qu'il s'agit donc ici de spores, nous avons retenu comme critère d'activité le pouvoir bactéricide.

Ce pouvoir bactéricide apparaît, dans nos conditions d'expérience impliquant une dilution au 1/300 du principe actif, comme nul pour toutes les essences sauf une : l'essence de *Melaleuca viridiflora* (fournie par les Etablissements Prevet).

L'essence de Niaouli ordinaire a donné à la même dilution des résultats intéressants certes, mais inférieurs.

Si on retient également le pouvoir bactériostatique, on constate qu'il se manifeste pour différents produits en dehors évidemment de l'essence de Melaleuca spéciale, et qu'il reste élevé pour le carvacrol, le citral de lemongrass, les terpènes de lemongrass, l'essence de zeste de citron déterpénée, et l'essence de Niaouli ordinaire.

Mais nous y insistons, aucun de ces produits n'a d'action bactéricide sur les spores de *B. subtilis*.

**B. subtilis (spores)**

| | Diamètre du cercle d'inhibition en mm | Pousse en micro-atmosphère | Début de l'action bactéricide |
|---|---|---|---|
| Phénol | 45 | ++ (47) | > 18 h |
| Formol | 85 | 0 | 18 h |
| Alcool isopropylique | 15 | ++++ | — |
| Alcool éthylique | 29 | ++++ | — |
| 47. Carvacrol | 100 | 0 | > 18 h |
| 48. Citral de lemongrass | 100 | 0 | > 18 h |
| 53. Terpènes lemongrass | 100 | 0 | > 18 h |
| 12. Citron zeste déterpéné | 100 | 0 | > 18 h |
| 28. Niaouli | 100 | + | > 18 h |
| 31. Orange Italie | 100 | +++ | > 18 h |
| 51. Melaleuca | 30 | + | 30 mn |
| 50. Eugénol | 27 | +++ | 18 h |
| 54. Thymène | 45 | ++ (22) | 18 h |

(Les chiffres entre parenthèses de la colonne 2 indiquent le diamètre de la « cloche » d'inhibition, lorsqu'elle existe).

**En résumé**

On voit donc qu'en général les cocci Gram + se sont révélés beaucoup plus sensibles que les bacilles Gram —.

Il semble donc qu'on puisse dans cette gamme d'essences trouver d'intéressants produits antistaphylococciques.

Mais malgré la résistance relativement forte des bacilles Gram — il a été possible de dégager une essence à activité bactéricide rapide sur le *Pseudomonas* (aldéhyde cinnamique) et plusieurs sur le *Proteus* (cannelle Ceylan, girofle clou, aldéhyde cinnamique) et sur *E. coli* (cannelle Ceylan, aldéhyde cinnamique).

On constate également d'un point de vue théorique que ces différences de sensibilité font apparaître le danger qu'il y aurait à fonder un contrôle bactériologique des essences ou d'un produit à base d'essence sur un seul germe test.

(Ceci conduirait à une erreur par excès ou par défaut dans l'appréciation de l'activité et à un risque de sélection microbienne en cas d'utilisation).

La plus grande fréquence de l'action bactériostatique par rapport à l'action bactéricide doit attirer l'attention sur la nécessité de ne pas utiliser exclusivement des produits d'action temporaire, ce qui pourrait entraîner par un phénomène de sélection, des modifications de flore avec persistance de germes résistants soit dans l'atmosphère soit au niveau des muqueuses des individus.

On remarquera enfin l'impossibilité de définir une essence à action « universelle ».

Comme on l'a vu plus haut aucune essence ne se montre active sur tous les germes, dans toutes les conditions, même l'aldéhyde cinnamique qui a cependant le « spectre » le plus large.

On serait donc ainsi amené à envisager l'opportunité des mélanges d'essences, mais leur étude éventuelle échappe à notre but qui était comme nous l'avons précisé de proposer une technique de sélection des huiles essentielles.

On retrouve donc à propos des essences des problèmes voisins de ceux que l'on rencontre en matière d'antibiothérapie où la nécessité de l'association des antibiotiques est bien connue.

On n'oubliera pas et c'est sur ce point que nous voudrions clore cette étude, qu'une fois retenues pour leurs qualités antimicrobiennes, les essences devront encore répondre à un critère d'innocuité, que nous n'avons pas voulu envisager ici, dans ce travail essentiellement bactériologique.

# CONCLUSION

Au cours de ce travail nous avons passé en revue successivement la nature et les modalités de la contamination microbienne de l'air tant en général que dans certains milieux particuliers.

Nous avons également envisagé les moyens d'études et de prélèvement préconisés et les procédés chimiques de désinfection proposés jusqu'à maintenant.

Pensant que les huiles essentielles dont les propriétés désinfectantes sont empiriquement connues depuis longtemps, méritent une étude systématique avec la technique rigoureuse de la bactériologie moderne, nous leur avons consacré une importante partie de notre travail en comparant dans une série de tests, leur activité antimicrobienne à celle des antibiotiques et des antiseptiques de référence.

Nous nous sommes attachés à définir avec précision nos conditions expérimentales et le matériel soumis à notre étude, de façon à ce que nos résultats puissent aisément être retrouvés et reproduits.

Nos travaux personnels ont ainsi porté spécialement sur :

1) La mise au point de trois techniques d'études
   a) par diffusion sur gelose (pouvoir bactériostatique)
   b) par vaporisation en microatmosphère (pouvoir bactériostatique)
   c) par mélange au bouillon nutritif (pouvoir bactéricide) ;
2) La sélection et la définition de 6 germes tests pour chacun desquels il a été procédé à l'établissement d'un antibiogramme complet (23 antibiotiques ou sulfamides) ;
3) L'étude systématique de l'action antimicrobienne de 54 essences ou produits volatils par chacune des trois techniques et pour chacun des six germes, comparativement à l'action de deux antiseptiques de références et des alcools isopropylique et éthylique.

Cette étude a nécessité plus de mille expériences différentes et a été illustrée par la prise de plus de 500 clichés photographiques.

Nous avons pu ainsi apprécier de façon rigoureuse, le pouvoir bactériostatique et bactéricide des essences envisagées, en nous attachant à définir avec précision nos conditions expérimentales et le matériel étudié de façon à ce que nos résultats puissent être facilement reproduits.

Nous avons pu ainsi établir le haut pouvoir antimicrobien de certaines huiles essentielles et de certains de leurs composants confirmant en cela des opinions « historiques » traditionnelles.

Nous croyons donc pouvoir recommander l'usage d'huiles essentielles sélectionnées pour la désinfection des atmosphères tant en raison de leur indéniable pouvoir bactériostatique et bactéricide qu'en raison de l'agrément de leur emploi et leur absence de nocivité pour l'organisme vivant.

Les huiles essentielles nous paraissent ainsi particulièrement indiquées pour la désinfection continue en cours de maladie ou en temps d'épidémie, dans les transports en commun ou dans les salles d'hôpitaux ou de spectacle, en pratique chaque fois qu'une désinfection s'avère nécessaire en présence d'individus.

Les qualités d'agents antimicrobiens que nous avons pu reconnaître aux huiles essentielles nous paraissent en outre pouvoir faire l'objet d'autres applications dans l'industrie ou en art vétérinaire où la nécessité de la lutte contre les germes s'avère très fréquente.

Nous soulignons toutefois que les résultats obtenus ne se retrouveront identiques à eux-mêmes qu'avec l'emploi de produits nettement définis et susceptibles d'être efficacement contrôlés tant du point de vue chimique que du point de vue de leur activité antimicrobienne.

Nous avons déjà mentionné les conditions anormales du régime des produits antimicrobiens autorisés pour les désinfections légales :

1) Composition mal définie et pratiquement incontrôlable, sauf par la technique bactériologique officielle ;

2) Impossibilité d'une analyse physicochimique ;

3) Absence effective de tout contrôle ultérieur. (Il ne nous semble pas en effet qu'un prélèvement de tel produit ait été effectué par l'Inspection des Pharmacies.)

L'obligation faite aux produits pharmaceutiques de mentionner une composition rigoureusement exacte et contrôlable par telle technique choisie par le fabricant et validée par un expert officiel semblerait pouvoir s'imposer aux produits antibactériens employés par les Services d'Hygiène et les Collectivités.

Si des huiles essentielles sélectionnées et pures sont utilisées pour cet usage il devrait être possible d'en codifier le contrôle physico-chimique et d'en vérifier l'efficacité bactériologique.

Pour ce dernier point, en dehors de la technique officielle, des normes s'inspirant des travaux que nous avons rapportés dans la présent travail pourraient utilement être retenues.

En tous cas, nous espérons avoir dans ce travail attiré l'attention du pharmacien sur un aspect particulier de la désinfection de l'atmosphère et l'avoir mieux mis à même de juger des possibilités encore trop mal exploitées des huiles essentielles en ce domaine, et notre but aura été atteint si nous avons contribué à les faire mieux connaître

# BIBLIOGRAPHIE

ALBRECHT (T.). — *L'appréciation quantitative des microbes de l'air*, Arch. Hyg. (Berlin), 139, 109-116 ; 1955.

— *Utilisation des filtres à membranes pour la détection des germes de l'air*, Arch. Hyg. (Berlin), 141, 210-216 ; 1957.

AMES (A.-M.), NUNGESTER (W.-J.). — *The initial distribution of air-born bacteria in the host*, J. infect. Dis. 1949, 84, p. 56-63.

ANDERSEN (A.-A.). — *New sampler for the collection, sizing and enumeration of viable air-born particles*, J. Bact. 1958, 76, p. 471-484.

ANDERSON (K.-F.), SHEPPARD (R. A. W.). — *Dissemination of* Staphylococcus aureus *from woolen blankets*, Lancet 1959, I, p. 514-155.

ANDERSON (K.), KEYNES (R.). — *Infected cork closures and the apparent survival of organisms in antiseptic solutions.* Brit. med. J., 274-275 ; 2 août 1958.

ANTHAMATTEN. — *Application de désinfectants, contrôle de leur activité*, Thèse Pharmacie Strasbourg 1955.

AZALOUX. — « *L'OL* 24 », *ses indications thérapeutiques. Contribution à l'étude de la thérapeutique antiseptique par les essences végétales.* Thèse Pharmacie Toulouse 1943.

BACHMANN (F.-M.). — *The inhibitory action of certain spices on the growth of micro-organismes.* J. Ind. Eng. Chem. 8, 620-623 ; 1916.

— *Use of microorganisms to determine the preservative value of different brands of spices.* J. ind. Eng. Chem. 10, 121-123 ; 1918.

— *Effect of spices on growth of* Clostridium botulinum. J. infectious diseases 33, 236-239 ; 1923.

BALANSARD (S.). — *Etude du romarin.* Thèse Pharmacie Marseille 1953.

BAREL. — *Etudes des essences de lavande du Lot.* Thèse Pharmacie Toulouse 1950.

BATE (J.-G.), JAMES (U.). — Salmonella thyphimurium *infection dust-born in a children's hospital.* Lancet II, 713-715 ; 1958.

BERNARD (G.), BUIS. — *Sur l'emploi thérapeutique du cinnamate d'éthyle.* Thèse Médecine, Paris 1957.

BERRY (C.-M.). — Public Health reports 1941, 56, 2044.

BERTOYE (P.), BERTOYE (A.), MONNET (P.). — *Les infections de maternité chez le nourrisson.* Le Nourrisson 38, 5, 209-217 ; Septembre-octobre 1950.

BERTOYE (P.), BERTOYE (A.). — *L'infection dans les collectivités de nourrissons. Ses causes, ses conséquences, les moyens d'y remédier.* Médecine d'Egypte 135-146 ; juin 1955.

BERTOYE (A.), CARRAZ (M.). — *Les infections à staphylocoques pénicillino-résistants chez les enfants du premier âge.* Journal de Médecine de Lyon, 759, 765, 773 ; 20 août 1951.

BERTRAND (G.). — *Le « Goménol ».* Bull. gen. de Ther. Ann. Inst. Pasteur 1893.

BESSON (A.), DESBORDES, ROSENSWEK (O.), PELLETIER (J.), GUYOTJEANNIN (C.). — *Contribution à l'étude bactériologique de l'air à Paris.* Ann. Inst. Pasteur 89, 516-522 ; 1955.

BIANCANI (E.), DELAVILLE (H.). — *Les aérosols*. Exp. Scient. Franc. ed. Paris 1958.

BIGG (E.). — *Effect of propylene glycol on bacteria spores*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 53, 120, ; 1943.

BILL (J.-P.). — *La méthode électrostatique pour recueillir la poussière appliquée à l'analyse sanitaire de l'air*, J. Industrial Hyg. 1, 323, 42 ; novembre 1919.

BLUM (H.-B.), FABIAN (F.-W.). — *Spices oils and microbial surface growth.*, Fruits Products J., 23, 326 ; 1943.

BONNAURE (F.). — *Essais sur les propriétés bactéricides de quelques huiles essentielles*, Thèse Médecine, Lyon 1919, et Parf. Mod. 1919, 12, 151.

BOSE (S.-M.), BHIMA (RAC. CN.), SUBRAMANYAN (V.). — *Relation between chemical constitution and constituants of certain essential oils and their bactericidal properties*, J. Sci. Ind. Research (India) 8B, 157-162 ; 1949.

BOSE (S.-M.). — *Factors affecting the germicidal properties of lemongrass emulsions*, J. Sc. Ind. Res., 9B, 12-28 ; 1950.

BOURDILLON (R.-B.), LIDWELL (O.-M.), THOMAS (J.). — *A slit-sampler for collecting and counting air-born bacteria*, J. Hyg. 41, 197 ; 1941.

BOURDILLON (R.-B.), LIDWELL (O.-M.), LOVELOCK (K.-E.). — *Studies in air hygiene*, Spec. Rep. Serv. Med. Res. Coun. London n° 262 ; 1948.

BOURNOT (K.). — *Sur l'influence des matières volatiles sur l'organisme vivant, spécialement celui des plantes*, Pharmacie 4, 81 ; 1949.

BOUSQUET. — *Influence de la composition chimique de l'air sur le développement des cultures de moisissures*, Thèse Pharmacie, Paris 1933.

BOYLAND (E.), GADDUM (J.-H.), MACDONALD (J.-F.). — *Nasal filtration of air-born droplets*, J. Hyg. 45, 290 ; 1947.

BRAUN (H.). — Die deutsche Heilpflanze VI, 63 ; 1940.

BROWN (A.-D.). — *The survival of airborn microorganisms*, Austral. I. Biol. Sci. 6, 463-469 ; 1953 et 7, 444-451 ; 1954.

BRUN. — *Les essences végétales en tant qu'agent de pénétration tissulaire*, Thèse Pharmacie Strasbourg 1952.

BRUNING (H.). — *Aetherische Oele und Bakterienwirkung in roher Kuhmilch*, Zentralblatt für innere Medizin, 27, n° 14 ; 1906.

BRYANT (J.-J.). — *Bactericidal value of perfumes*, Perfumery essent. Oil Record 15, 252-255 et 426-431 ; 1924.

BUTTIAUX (R.). — *Pouvoir bactéricide de quelques composés d'ammonium quaternaires préparés en France. Leur champ d'application*, L'industrie Chimique 38, 87-102 ; 1951.

CADE (A.-R.). — *Essential Oils. Antiseptics, disinfectants, fungidides, and chemical and physical sterilization*, Reddish C. F. ed. Philadelphia 1957.

CADEAC (M.), MEUNIER (A.). — *Recherches expérimentales sur l'action antiseptique des essences*, Annales Institut Pasteur 3, 317 ; 1880.
— Ann. Inst. Pasteur 3, 317-326 ; 1889.

CARRAZ (M.). — *Problèmes posés par la contamination de l'air. Procédés actuels d'assainissement et de stérilisation*, Techniques Pharmaceutiques V ; 10 octobre 1958.

CARRAZ (M.), BERTOYE (A.). — *Utilisation d'un milieu de Chapman modifié pour la détermination de la contamination de l'air par les staphylocoques*, Ann. Inst. Pasteur 1950, 78, 702-70,.

CARRÈRE. — *Eau distillée de romarin*, Thèse Pharmacie Lyon 1933.

CAVEL (L.) — *Sur la valeur antiseptique de quelques huiles essentielles*, C. R. Académie des Sciences, 827 ; 1918.

CAZAL (R.). — *Contribution à l'étude pharmacodynamique de quelques essences de Labiacées*, Thèse Pharmacie Toulouse 1844.

CHABBERT (Y.), BOULINGRE (H.). — *Modifications pratiques concernant le dosage des antibiotiques en clinique*, Revue Frse Etudes cliniques et biologiques II, 636-640 ; 1957.

CHALLINOR (S.-W.). — *Bacteriological observations on the air of occupied premises. Air desinfection with hypochlorites. A simple pratical method of desinfecting the air of occupied promises*, J. Hyg. 43, 16 ; 1943.

CHAMBERLAND (M.). — *Les essences au point de vue de leurs propriétés antiseptiques*, Ann. Inst. Pasteur I, 153-154 ; 1887.

CHARABAT. — *Les huiles essentielles* Encyclopedie scientifique ed.

CHECCACCI (L.). — *Ricerche sulla desinfezione dell'aria*, Ann. Igiene nº 2, 76 ; avril 1947 — Ann. Igiene 5, 253 ; septembre-octobre 1947 — Boll. Inst. Sieroter. Milan 28, 24, 27-28, 31 ; 1949.

CLAVEL (L.). — *Classification des huiles essentielles suivant leur valeur antiseptique*, CR Ac. Sc ; 1918.

COCHRAN (C.-B.), PERKINS (J.-H.). — *The comparative value of some essentiel oils as preservatives of cane sugar solutions*, J. Ind. Eng. Chem. 6, 304-306 ; 1914.

— *The comparative value of some essential as preservatives of starch syrups*, J. Ind. Eng. Chem. 6, 306-307 ; 1914.

COLEBROOK (L.), ROSS (W. P. D.). — *Dissemination of haemolytic streptococci in air*, Lancet 1947 ; 253, 792-794.

COLLIER (W.-A.), NITTA (Y.). — *Action of ethereal oils on different bacterial species*, Z. Hyg. Infektionskrank. III, 301, 312 ; 1930.

COLOBERT (L.), BOQUET (G.). — Ann. Inst. Pasteur 91-663 ; 1957.

COURMONT (P.), MOREL (P.), BAY (I.). — *Pouvoir infertilisant de certaines essences végétales et de leurs constituants vis-à-vis de cultures homogènes de B. K.*, C. R. Soc. Biol. 91 ; 1313-1314, 1913 — 96 ; 1313, 1927 et 98, 318-320 ; 1928.

COURMONT (P.), MOREL (A.), PERROT (L.), DENARD (L.). — *Sur le pouvoir infertilisant du sulfate neutre de 8 hydroxyquinoléine pour le bacille de Koch en différents milieux et notamment en cultures homogènes*, C. R. Soc. Biol. 1936 ; p. 1111.

COURMONT (P.), MOREL (A.), PERROT (L.), SANLAVILLE (S.). — *Du pouvoir infertilisant des essences d'ail et de moutarde sur les cultures homogènes de bacille de Koch*, C. R. Soc. Biol. 124, 749-751 ; 1937.

COURMONT (P.), MOREL (P.), BAY (I.). — *The antiseptic action of essential oils*, Parfumerie mod. 21, 161 ; 1938.

COUTURE. — Thèse Pharmacie Lyon 1951.

CUJETANOVIC (B.). — *Examination and evaluation of the bactérial air pollution*, Hygigena 9, 206-215 ; 1957.

— *Determination of bacterial air pollution in various premises*, J. Hyg. 56, 163-168 ; 1958.

CZAJKOWSKI (Z.), UGORSKI (L.). — *A washing device for the quantitative determination of microorganisme in the air*, Med. Weteryn (Pologne) 11, 281-286 ; 1955.

DAHIEZ. — *Le conditionnement de l'air dans les locaux habités au point de vue de l'hygiène. Ses applications aux établissements hospitaliers*, Thèse Pharmacie Lille 1933-1934.

DANCER (G.). — *Désinfection continue en médecine vétérinaire*, Thèse vétérinaire, Lyon 1961.

DAUTREBANDE (L.), PHILLIPOT (E.), STALPORT (J.). — Presse Médicale 54, 769 ; 1942, Arch. Inter. Physiologie 76, 213 ; 1948.

DAUTREBANDE (L.), ALFORT (W.-C.), IRWIN (D.-A.), MICHELL (E.-R.), THOMPSON (E.-C.), WEAWER (F.-L.), WOODE (J.), WOODE (J.), Arch. Inter. Pharmacodyn. 80, 388 ; 1949.

DAUTREBANDE (L.). — Physiol. Rev. 32, 214-275 ; 1952.

DEBARUE. — *Eau distillée de thym*, Thèse de Pharmacie Lyon 1933.

DECKER (H.-M.), HOORMAN (H.-E.), GLICK (C.-A.). — *Efficiencies of electrostatic precipitators and spun glass filter pads in removing bacterial and viral agents*, Bact. Proceed. 1950 ; 59.

DECKER (H.-M.), GEILE (F.-A.), HARSTAD (J.-B.), GROSS (N.-H.). — *Spun glass air filters, for bacteriological cabinets, animal cages and shaking machine containers*, J. Bact. 1952 ; 63, 377-383.

DECKER (H.-M.), KUEHNE (R.-W.), BUCHANAN (L.-M.), PORTER (R.). — *Design and evaluation of a slit-incubator sampler*, Appl. Microb. 6, 398-400 ; 1958.

DEHAUT. — *Pouvoir antibactérien du thymol, du carvacrol et de quelques dérivés*, Thèse Pharmacie Toulouse 1945.

DELARUE. — *Contribution à l'étude de l'essai d'activité « in vivo » des substances antiseptiques*, Thèse Médecine Paris 1958.

DESBORDES (J.), LEBOURDELLES (B.). — *Etude des procédés de contrôle d'efficacité des antiseptiques utilisés pour la désinfection des locaux*, C. R. 6e Congrès International de standardisation biologique, Hoffman H. ed. Berlin 1960.

DŒUVRE (J.). — *Recherches sur le citronellol et le rhodinol*, Thèse Doctorat es Sciences Lyon 1928.

DU BUY (H.-G.), LACKEY (M.-D.). — *A comparative study of sampling devices for air-born microorganisms*, Publ. Hlth. Reports. Suppl. 184 ; 1945.

DU BUY (H.-G.), ARNOLD (F.-A.), OLSON (B.-H.), HOLLAENDER (A.). — *Sampling devices*, Am. J. Med. Sci. 209, 172 ; 1945.

DU BUY (H.-G.), ARNOLD (F.-A.), OLSON (B.-J.), *Studies on the air transmission of micro-organisms derived from the respiratory tract.*, Tract. Publ. Health reports 62 ; 1391, 1947.

DU BUY (H.-G.), ARNOLD (F.-A.), OLSON (B.-J.), DUNN (J.-E.), BRACKETT (F.), DRESSEN (W.-C.), NÉAL (P.-A.), POSNER (I.). — *An evaluation of ultraviolet radiation of sleeping quarters as a supplement of accepted methods on disease control*, Am. J. Hyg. 48, 207 ; 1948.

DUGUID (J.-P.). — *The size and the duration of air carriage or respiratory droplets and dropletnuclei*, J. Hyg. 44, 471 ; 1946.

DUGUID (J.-P.), WALLACE (A.-T.). — *Air infection with dust liberated from clothing*, Lancet 1948 ; 255, 845-849.

DUMAS. — *Pouvoir antiseptique et infertilisant du benzène et de quelques dérivés halogènes*, Thèse de Pharmacie Lyon 1934.

DUNKLIN (B.-W.), PUCK (T.-T.), *The lethal effect of relative humidity on airborn bacteria*, J. Exp. Med. 1948 ; 87, 87.

DUNKLIN (E.-W.), LESTER (W.). — *Residual surface disinfection.*
— *The effect of orthophenylphenol treatment of the floor on the bacterial contamination in a recovery room*, J. Inf. Dis. 1959 ; 104, 41-55.

DYCHE-TEAGUE (F.-C.). — *Bactericidal value of some commercial perfumes*, Perfumery Essent. Oil record 15, 6, 8, 43, 81, 81 ; 1924.

EDEBO (L.), LAURELL (G.). — *Hospital infection of the urinary tract with* Proteus. *A clinical bacteriologic study with special reference to modes of infection*, Acta Path. Microbiol. Scand. 1958 ; 43, 93-105.

EFFENBERGER. — Arch. Hyg. Bakt. 138, 237 ; 1954.

ELFORD (D.-J.), VAN DEN ENDE (J.). — *Studies on the desinfectious action of hypochlorous acid gas and sprayed solution of hypochlorite against bacterial aerosols*, J. Hyg. 44, 1 ; 1945.

FABRE (R.), TRUHAUT (R.). — *Précis de toxicologie*, Imprimerie Sedes, Paris.

FABRE (R.). — *Leçons d'hygiène appliquée du travail. L'air des locaux de travail*, Hermann, ed. Paris 1943.

FABRE (R.), MAGNIER DE LA SOURCE. — Ann. Hyg. Publ. Ind. et Soc. 250 ; novembre-décembre 1950.

FENAUX (M.). — *Désinfection de l'air par le triéthylène glycol dans les crèches et les pouponnières*, Thèse Médecine, Paris 1949.

FENEYRIU. — *Contribution à l'étude du pouvoir antiseptique de certains dérivés sulfurés du phénol, du thymol et du carvacrol*, Thèse Pharmacie, Toulouse 1951.

FLUGGE. — Ztschr. f. Hyg. 25, 179 ; 1897 — Ztschr. f. Hyg. 30, 107 ; 1899.

FOUJOLS. — *Contribution à l'étude du géranium rosat d'Algérie et de son essence*, Thèse Pharmacie Alger 1943.

FROIDEVAL (P.-G.). — *Les vapeurs de triéthylène-glycol dans le cadre de la désinfection permanente de l'air en pédiatrie*, Thèse Médecine, Paris 1956.

GALLOWAY (L.-D.). — *Essential oils as vapor phase antiseptics against mold fungi*, Perf. Ess. Oil Record 43, 359-395 ; 1952.

GARDNER (D.), CASELLI (M.-L.). — *Propriétés biologiques du carvacrol*, C. R. Académie Sciences 200, 1430 ; 1935. — C. R. Académie des Sciences p. 1430 ; 1936.

GATTEFOSSE (R.-M.), LAMOTTE. — *Culture et industrie des plantes aromatiques et des plantes médicinales de montagne ;* 1917.

GATTEFOSSE (R.-M.). — *Propriétés bactéricides de quelques huiles essentielles*, Parf. Mod. 152 ; 1919.
— *Les emplois thérapeutiques de l'essence de lavande*, Parfum. Mod. 26, 533 ; 1932.
— *L'aromathérapie*, Girardot, éd. Paris 1952.
— *Les désinfectants à base d'huile de pin*, Bull. de l'Institut du Pin VII, 162 ; 1935.
— *Aromathérapie*, Paris 1937.
— *Antiseptiques essentiels*, Girardot, éd. Paris 1938.

GATTI (G.), CAYOLA (R.). — Revista ital. delle ess. et prof. 4, 15 ; 1922.

GATTI (G.), CAYOLA (R.). — *Therapeutic action of essential oils*, Riv. Ital. essenze, Profumi 4, 16-23 ; 1922.
— *Therapeutic action of essential oils in diseases of the respiratory organs*, Parfum. Mod. 4, 77, 82 ; 1922.
— *The therapeutic action of essential oils*, Parfum. Mod. 5, 30, 33 ; 1923.

GATTI (G.), CAYOLA (R.). — *The use of essential oils in diseases of the scalp*, Parfum. Mod. 5, 85, 87 ; 1924.

GATTI (G.), RENATO (C.). — Revista Ital. 5, 85 ; 1923.

GENTON. — *Pouvoir antiseptique et infertilisant de l'essence de cannelle et de la série cinnamique*, Thèse de Pharmacie Lyon 1932.

GERBEAUX (O.), MEYER (B.), MOZZICONACCI (P.). — *Conditions de pollution microbienne de l'air intérieur*, Semaine des Hôpitaux 18, 91 ; 1957.

GILCREAS (F.-W.), ROBERT (H.-V.). — *Bacteriological studies in desinfection of air in large rural central school*, Ann. J. Publ. Health 40, 808, 820 ; 1950.

GILCREAS (F.-W.), READ (M.-R.). — *Bacteriologic studies in desinfection of air in large rural central schools. U. V. irradiation and triethylene glycol vapor treatement*, Amer. J. Pub. Health 45, 767-773 ; 1955.

GILDEMEISTER, HOFFMANN. — *Die ätherischen Oele*, Leipzig 1928.

GIRARD (P.). — *La désinfection de l'air*, Rev. Corps Santé militaire 4, 229-268 ; 1948.

GIRARD (P.), KERNY (G.). — *Méthodes nouvelles de stérilisation de l'air*, Ann. Hyg. Publ. Indust. Soc. 26, 146-161 ; août 1948.

GIRAUD (L.). — *Le lavandin et son essence. Pouvoir bactéricide*, Thèse Pharmacie, Lyon 1920.

GOHAR (M.-A.), EISSA (A.-A.). — *The use of membrane filters in the bacteriological examination of water and air*, Z. Hyg. Infeckt. Kr. 143, 364-370 ; 1957.

GOLDBERG (L.-J.), SHECHMEISTER (I.-I.). — *Studies on the experimental epidemiology of respiratory infections. Evaluation of factors related to slit sampling of air-born bacteria*, J. infect. Dis. 88, 243-247 ; 1951.

GONSER, MEYER. — *Etude chimique et microbiologique d'un désinfectant destiné aux méthodes dites « continues » et « terminales »*, Thèse Médecine, Strasbourg 1954.

GORDON (M.-H.). — Annual rep of Med. off. of Health 32, 421 ; 1902-1903.

GORET (P.), JOUBERT (L.). — Bull. Acad. Vétér. France 33, 329 ; 1960.

GREBUS. — *Substances antimicrobiennes chez les végétaux supérieurs. Etude particulière de l'*Eucalyptus globulus, Thèse Pharmacie, Marseille 1952.

GRÉGORY (P.-H.). — *The microbiology of the atmosphere*, Leonard Hill London et Interscience, Inc. ed. New-York ed. 1961.

GRUN (L.). — *Untersuchungen über die bakterizide Wirkung verschiedener zur Luftentkeimung verwendeter Glykole und über ihren Wirkungsmechanismus*, Zentralbl Bakt I, 156, 286-293 ; 1950.

GRUN. — Der Tuberkulosearzt 1952 ; 6, 177.

— *Über eine neue chemische Verbindung zur Desinfektion der Raumluft*, Zbl Bakt I Abt Ref. 162, 213-215 ; 1955.

— *Zum Problem der Luftdesinfektion unter besonderer Berucksichtigung neuerer physikalischer und chemischer Verfahren*, Ergebn Hyg. Bakt. 29, 623-691 ; 1955.

GRUN (L.). — *Über die additive Wirkung von U. V. Strahlen und Triaethylenglykol, bei der Luftdesinfektion*, Dtsch Med Wschr 81, 1217, 1219 ; 1956.

GRUN (L.), SCHOLTIS (K.). — *Untersuchungen über die Anwendung von Triaethylenglykol zur Luftdesinfektion*, Zentralbl Bakt. I. 154, 357-364 ; 1949.

GRUN (L.), SCHOPNER (R.). — *Erwartung und Leistung bei der hygienischen Handedesinfektion*, Z. Hyg. Infektkr 143, 521-532 ; 1957.

GUEGEN. — *Pouvoir antiseptique du « Gomenol »*, Soc. Biol. 1908.

GUILLARD (A.). — *Les microbes de l'air*, La nature 357, 62 ; 7 juin 1924.

GUILLOT (R.). — *Etude du pouvoir antiseptique de certains constituants des essences végétales soumis ou non à l'ozone*, Thèse Pharmacie, Lyon 1930.

GUYTON (H.-G.), BUCHANAN (L.-M.), LENSE (F.-T.). — *Evaluation of respiratory protection of contagion masks*, Appl. Microbiol. 1956 ; 4, 141-143.

HALLER. — C. R. Acad. Sc. 166, 827 ; 1918.

HAMBURGER (M.), PUCK (T.), ROBERTSON (O.-H.). — *The effect of triethylene-glycol vapor on air-born beta hemolytic streptococci in hospital wards*, J. Inf. Dis. 76, 208-215 ; 1945.

— *The combined action of glycol vapor and dust control measures*, J. Inf. Dis. 76, 208-215 ; 1945.

— *The action of glycol vapors at low relative humidities*, J. Inf. Dis. 77, 177-180 ; 1945.

HAMBURGER (M. Jr), GRENN (M.-J.), HAMBURGER (V.-G.). — *Spread of infection by individual with strongly positive nose cultures who expelled large numbers of hemolytic streptocci*, J. Infectious diseases 77, 96 ; 1945.

HAMBURGER (M. Jr), ROBERTSON (O.-H.). — *Expulsion of group a hemolytic streptococci in droplets and droplet nuclei by sneezing, coughing and talking*, Am. J. Med. 4, 690 ; 1948.

HAMMOND (E.-C.). — *Ammonium alginate wool as a filter for collecting micro-organisms from large volumes of air*. J. gen. Micro. Biol. 19, 267-170 ; 1958.

HARVEY (E.-H.). — *Efficiency of some common anti-ferments*, Am. J. Pharm. 94, 797, 801 ; 1922 — 95, 105-109 ; 1923 — 96, 585-589 ; 1924.

— *Essential oils as anti-enzymes*, Am. J. Pharm. 100, 525, 529 ; 1928.

KAUDUROY. — Thèse Lausanne 1951.

HELVE (A.). — *The bacterial content of air in children's hospitals*, Ann. Med. Exp. Biol. Fenn. 1950, 28 (supl. 6) p. 1-91.

HOLLAENDER (A.), DALLA VALLE. — *A simple device for sampling air-born bacteria*, Publ. Health reports 54, 574 ; 1939.

HOLLAENDER (A.), OLIPHANT (J.-W.). — *The inactive effect of monochromatic ultra-violet radiation on influenza virus*, J. Bact. 48, 447 ; 1944.

HOLMES (F.-M.). — *Sur les huiles d'eucalyptus*, Pharm. J., 1913.

HUDDLESON (U.-F.), HALL (T.-G.). — *Bactériologie de l'air d'un hall destiné aux divertissements*, Amer. J. Publ. Health X, 583-85 ; juillet 1920.

JASPER (C.), MARUZZELLA, LAURENCE LIGUORI. — *The in vitro antifungal activity of essential oils*, J. of the Amer. Pharm. Ass. Ed. Sc. XLVII ; 4 avril 1958.

JASPER (C.), MARUZZELLA, PERCIVAL (A.), HENRY. — *The antimicrobiol activity of perfume oils*, J.A.P.A. Ed. Sc. XLVII, 7, 471 ; juillet 1958.

JEAN-BLAIN (M.), JOUBERT (L.), RUCKEBUSCH (Y.), OUDAR (J.). — Bull. Acad. Vétér. 1960 ; 33, 275.

JENNISSON (M.-V.), EDGERTON. — *Droplet infection of air : highspeed photography of droplet production by sneezing*, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 43, 455 ; 1940.

JENNISSON (M.-W.), TURNER (C.-E.). — *The origin of droplet and air-born infections*, The trained Nurse and Hospital rev. 106, 186 ; 1941.

JENNISSON (M.-W.). — *The dynamics of sneezing - studies by hygh speed photography*, Sci. Monthly 52, 24 ; 1941.

— *Atomizing of mouth and nose secretions into the air revealed by hygh-speed photography*, Aerobiology. Am. Ass. Advance. Sci. Symposium 17, 106 ; 1942.

HOHANSON (K.-R.), FERRIS (D.-H.). — *Photography af air-born particles during bacteriological plating operations*, J. infections diseases 78, 238 ; 1946.

JOUBERT (L.), DEKEYNE (C.). — Rev. Path. gener. Phys. Clin. 1959 ; 59, 123.

JOUBERT (L.). — *La désinfection continue en médecine vétérinaire*, Cahiers de médecine vétérinaire XXIX nº 2, 1960.

JUDE (A.). — Rapport au 30e Congrès d'Hygiène, Paris 1950.

KAJIWARA (S.), SAMORI (N.). — *Air-filter made of sodium glutamate. A new method of quantative determination of bacteria floating in the air*, Med. J. Osaka Univ. 6, 587-610 ; 1954.

KARABASEVIL (B.) & Coll. — *Microflora in restaurants as the indicator of their hygienic state*, Higihena 6, 273-286 ; 1954.

KELLNER (W.) , KOBERT & Coll. — *Möglichkeiten der Verwendung ätherischer Öle zur Raumdesinfektion*, Arzneim. 4, 5, 319 ; 1954 — 5, 4, 224 ; 1955 — 6, 12, 768 ; 1956.

KIENHOLZ (M.). — *Action antibactérienne des huiles essentielles*, Arzneim. 9/8, 518, 519 ; août 1959.

KIRCHER (H.). — *Zur pharmakologischen Grundwirkung der ätherischen Öle*, Inaugural Dissertation. Tubingen 1938.

KLIEWE (H.), HUTHMACHER (C.-K.). — *Inhibition and bactericidal properties of essential oils*, Deut. Apoth. Ztg 53, 952-955 ; 1938.

KLIEVE (H.), WASIELEWSKI (E.). — *Verfahren und Mittel sur Dezinfektion der Luft*, Arch. Hyg. Bakt 135, 286-302 ; 1954.

KLUYNER (A.-J.), VISSER (J.). — *The determination of microorganisms in air. Some observations on air-filtration*, Antonie van Leeuwenhœk 16, 299, 311, 324 ; 1950.

KOBERT (K.). — *Systematic experiments on the antiseptic action of etheral oils*, Pharm. Ztg 51, 945 ; 1906.

KOCH (R.). — *Zur Untersuchung von pathogenen Organismen*, Mitt. Kaiserl Gesundh. Amt I, 234 ; 1881.

KRUEGER (A.-P.), SMITH (R.-F.), GO (I.-G.). — *The action of air ions on bacteria. Protective and lethal effects on suspensions of staphylococci in droplets*, J. gen. Physiol. 1957 ; 41, 359-381.

KRUGMAN (S.), SWERDLOW (B.). — *Lethal effect of triethylene glycol vapor on air-born mumps virus and Newcastle disease virus*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 71, 680 ; 1949.

KUSS (G.). — *Détermination du coefficient de fixation dans les poumons des poussières sèches et des gouttelettes poussiéreuses en suspension dans l'air respiré*, Bull. Acad. Med. 3e série LXXXVII, 418-19 ; 11 avril 1922.

LAMBIN (S.), GERMAN (H.). — *Précis de microbiologie*, Masson ed., Paris 1961.

LE BOURDELLES (B.), DESBORDES (J.). — *L'organisation du contrôle des préparations immuno-microbiologiques dans les pays étrangers*, Rev. Hyg. Med. Soc. 6, 323-334, 441-468 ; 1958.

Le Gall (A.). — *De la désinfection. Recherche sur l'activité d'antiseptiques à base d'huiles essentielles*, Thèse Doc. Vétérinaire Alfort 1960.

Le Guyon. — *Précis de Bactériologie*, Paris, Douin 1961.

Leimbach (R.). — *Die ätherischen Öle*, Wilhelm Knapp ed., Halle-Saale 1951.

Lester (W. Jr). — *The influence of relative humidity on the infectivity of air-borne influenza a virus (PR8 strain)*, J. Exp. ed. 88, 361 ; 1948.

Lester (W. Jr), Robertson (O.-H.), Puck (T.-T.), Wisf (H.). — *The rate of bactericidal action of triethylene glycol vapor on microorganisms dispersed into the air in small droplets*, Amer J. Hyg. 50, 175-188 ; 1949.

Lester (W. Jr), Kaye (S.), Robertson (O.-H.), Dunklin (E.-W.). — *Factors of importance in the use of triethylene glycol vapor for aerial desinfection*, Amer J. Publ Hlth 1950 ; 40, 813-820.

Lester (W. Jr), Dunklin (E.), Robertson (O.-H.). — *Bactericidal effects of propylene and triethylene glycol vapors on air-born* E. Coli, Science 115, 379-382 ; 1952.

Lipp (R.). — *Zur Krankenhaushygiene bei chirurgischer Sanierung von Typhus-Paratyphus-Dauerausscheidern*, Münch. mediz. Wschr. 100, 957-969 ; 1958.

Loosli (C.-G.), Smith (M.-H.), Gauld, Robertson (O.-W.), Puck. — *Control of cross-infections in infants'wards by the use of triethylene glycol vapor.*, Am. J. Pub. Health 37, 1385 ; 1947.

— *Dust and its control as a mean of disinfection of air*, Amer. J. Publ. Health 37, 353 ; 1947.

Loosli (C.-G.), Lemon (H.-M.), Wise (H.). — *Studies on the transmission and control of respiratory disease within army barraeks*, J. Infect. Dis. 82, 59-71 ; 1948.

Loosli (C.-G.) — *Problem of dust control for the disinfection of air*, Am. J. Publ. Health 38, 409 ; 1948.

Loosli (C.-G.), Lemon (H.-M.), Wise (H.), Hamburger (H.). — *The effect of oiling procedures on the incidence of respiratory diseases and hemolytic streptococcal infections*, J. of. Infect. diseases 90, 153, 164 ; 1952.

Lowbury (E. J. L.), Lilly (H.-A.). — *Contamination of operating-theatre air with* Cl. tetani, Med. J. xi, 29, 1334-1336 ; 1958.

Luckiesh (M.), Holladay (I.-L.) — *Tests and data on disinfection of air with germicidal lamps*, Gen. Elec. Rev. 45, 223 ; 1942.

— *Designing installations of germicidal lamps for occupied rooms*, Gen. Elec. Rev. 45, 343 ; 1942.

— *Sampling air for bacterial content*, General electric review 49, 8, 17 ; 1946.

— *Killing air-born respiratory microorganisms with germicidal energy*, J. Franklin Inst. 244, 267 ; 1947.

Maassen (W.). — *Beitrage zur Verträglichkeit und Wirksamkeit von Luftdesinfektionsmitteln ; Die Wirksamkeit gegenüber künstlich mit* S. typhimurium *infirzierten Mäusen*, Zeitschr Hyg. Infektion. Krankh 136, 280-288 ; 1953 — 136 440-445 ; 1953 — 137, 357-366 ; 1953.

Maisonnet (M.). — *Contribution à l'étude des germes de l'air. Description et expérimentation d'un nouvel appareil permettant l'analyse bactériologique de l'air*, Thèse médecine Paris 1955.

— *Les germes de l'air : « l'hydroaéroscope » nouvel appareil permettant l'étude de la pollution atmosphérique*, Rev. Hyg. Med. Soc. 4, 228-240 ; 1956.

— *Etude bactériologique de l'air marin au large de la côte africaine*, Rev. Hyg. Med. Soc. 7, 62-70 ; 1959.

— *Etude bactériologique de l'air de la forêt subtropicale et de la savane. Déductions épidémiologiques (Abidjan)*, Rev. Hyg. Med. Soc. 7, 162, 169 ; 1959.

MARCHAL (J.-G.), GIRARD (T.). — *Contrôle d'innocuité des substances utilisées dans la lutte contre la propagation des bactéries pathogènes par l'atmosphère*, Bull. Ass. Diplômés de Microb. de la Fac. Pharm. Nancy nº 54 ; 1954.

MARSH (F.-E.), MAUS. (W.-K.). — *A though on the place of volatile oils in plant economy*, J. Am. Pharm. Assos. Sci. ed. 19, 344-348 ; 1930.

MARSH (F.), RODWAY (H.-E.). — *Bacteriology of air and dust in a maternity hospital*, Lancet 266, 125-127 ; 1954.

MARTINDALE (W.-H.). — Pharmaceutical journal 1910, *Antiseptic powers of essential oils*, Perfumery essent. Oil Record I, 266, 274 ; 1910 et 2-10-11 ; 1911.

MATHAIS. — *Pouvoir infertilisant et antiseptique de certains carbures aromatiques, hydro-aromatiques et aliphatiques*, Thèse Pharmacie, Lyon 1931.

MILLER (R.-E.). — *Bactéricidal efficiency of essential oils*, Am. J. Pharm. 103, 323-327 ; 1931.

— *Efficacité bactéricide des huiles essentielles*, Parf. Mod. 105 ; 1932.

MIQUEL (M.). — Ann. Institut Pasteur 2, 3, 364 ; 1888.

MITCHELL (R.-B.), FULSTON (J.-D.), ELLINGSON (H.-V.). — *A soluble gelatin foam sample for air-born micro-organisms at surface levels*, Amer, J. Publ. Health 44, 1334, 1339 ; 1954.

MOLE, PFLETSCHINGER (A.). — *Etude comparée du dosage chimique de quelques huiles essentielles officinales, menthe, girofle, cannelle, citron, orange*, Thèse Pharmacie, Strasbourg 1954.

MOORE (Q.). — *Note on the testing of disinfectants by the Rideal-Walker methode*, J. Soc. Chem. Ind. XLVI, 472 ; 1926.

MOORE (Q.), WALKER (J.-N.). — *Selective action in germicidal preparation containing chlorinated phenols*, Pharm. J. 143, 507-509 ; 1939.

MOREL (A.), ROCHAIX (A.). — *Recherches comparatives sur l'action microbicide des vapeurs de quelques essences végétales*, C. R. Soc. Biol. 86, 861 ; 1921.

MOREL (A.), ROCHAIX (A.). — *Bactericidal action of some vegetable essences in the liquid state*, C. R. Soc. Biol. 86, 933-934 ; 1922.

— *The bactericidal efficiency of essential oils*, Perfumery Essent. Oil Record 16, 406-408 ; 1925.

— *Germicidal action of certain vegetable essences*, Bull. Sci. Pharmacol. 32, 257-270 ; 1925.

— *Contribution à l'étude de l'action microbicide de quelques essences végétales*, Parfum. Mod. 18, 261-269 ; 1925.

— *Contribution à l'étude de l'action microbicide de quelques essences végétales*, Parf. Mod. 19, 184 ; 1927.

— *Sur le pouvoir infertilisant de quelques essences végétales vis-à-vis de divers microbes pathogènes*, Parf. Mod. 20, 186 ; 1927.

— *A antiseptic power of certain essential oils*, Bull. Sci. Pharmacol. 35, 631-634 ; 1928.

— *Action microbicide par contact de quelques essences à l'état liquide*, C. R. Soc. Biol. 933 ; 1922.

— *Contribution à l'étude de l'action microbicide de quelques essences végétales*, Bull. des Sciences Pharm. XXXII, 257 ; 1925.

MOREL (A.), ROCHAIX (A.), SEVELINGE (L.). — *Antiseptic and infertilizing actions of some essences of mint and their principal constituents*, C. R. Soc. Biol. 98, 48 ; 1927 — C. R. Soc. Biol. 98, 47-49 ; 1928, Schweiz. Apoth. Zeitung, 66, 80 ; 1928.

MOREL (A.), ROCHAIX (A.). — *Recherches sur le pouvoir infertilisant de quelques essences végétales*, Bull. des Sciences pharm. XXXV, 631 ; 1928.

MOREL (A.), ROCHAIX (A.). — *Essence de lavande*, Bull. Soc. Pharm. XXXV, 652 ; 1928.

MOREL (A.), ROCHAIX (A.). — *Pouvoir infertilisant de quelques essences végétales*, C. R. Soc. Biologie 2152 ; 1929.

MOREL (A.), ROCHAIX (A.), DŒUVRE (J.), GUILLOT (R.). — *Sur le mécanisme de l'action infertilisante des essences végétables. Recherches sur l'influence de l'ozonisation du d. citronellol*, C. R. Soc. Biol. CIII, 85 ; 1930.

MOREL (A.), ROCHAIX (A.), DŒUVRE (J.), GUILLOT (R.). — *Sur le mécanisme de l'action infertilisante des essences végétales. Recherches sur l'influence de l'ozonisation du rhodinol, du linalol et des pinènes*, C. R. Soc. Biol. XIV, 582 ; 1930.

MOREL (A.), ROCHAIX (A.), MATHIAS (M.). — *Recherches sur les pouvoirs infertilisants et antiseptiques de quelques hydro-carbures vis-à-vis des cultures de certains microbes pathogènes*, C. R. Soc. Biol. XVIII, 897 ; 1931.

— *Sur les pouvoirs antiseptiques et infertilisants de quelques phénols et éther oxydes de phénols à fonction allylique, propénylique ou aldéhydique*, C. R. Soc. Biol. CXIV, 118 ; 1933.

— *Sur les pouvoirs antiseptiques et infertilisants des essences de cannelle et de quelques dérivés cinnamiques*, C. R. Soc. Biol. XIV, 645 ; 1933.

— *Pouvoir infertilisant de quelques essences végétales*, B. S. P. XXXII, 257 ; 1935.

MOREL (A.), ROCHAIX (A.), DELABORDE (H.). — *Sur les pouvoirs bactéricide et infertilisant des esters des acides aminobenzoïques*, C. R. Soc. Biol. CXIX, 612 ; 1935.

MOREL (A.), ROCHAIX (A.), PERROT (L.), MOUTOU (M.). — *Sur le pouvoir infertilisant de deux dérivés de la 6 méthyl - 8 hydroxyquinoléine, vis-à-vis des cultures de quelques microbes pathogènes*, C. R. Soc. Biol. CXXII, 115 ; 1956.

MOREL (A.), ROCHAIX (A.), PERROT (L.), SANLAVILLE (S.). — *Sur le pouvoir infertilisant de quelques corps organiques sulfurés vis-à-vis des cultures de certains microbes pathogènes*, C. R. Soc. Biol. 124, 188-190 ; 1937.

MORELLE (J.). — *Désinfection de l'air*, Parfum. Cosmét. Savons 126, 17-26 ; 1956.

MOSE (J.-R.), POTSCH. — *Action de quelques huiles essentielles et de leur principe actif sur les bactéries*, Arzneim. Forsch. 7, 687, 92 ; 1957 — Arch. Hyg. 138, 52 ; 1954.

MOSE (J.-R.), LUKAS (G.). — *Etude de l'action antibactérienne de quelques huiles essentielles et de leurs composants*, Arzneim. 7, XI, 687 ; 1957.

— *Bakteriellbedingte Transfusionszwischenfalle bei Übertragung von Plasmakonserven*, Arch. Hyg. Berlin 142, 351-367 ; 1958.

MOULTON, PUCK, LEMON. — *An apparatus for determination of the bacterial content of air*, Science 97, 51 ; 1943.

MULLER (A.). — *Internationaler Kodex der ätherischen Öle*, Alfred Huthig Verlag ed. Heidelberg 1952.

NYERS (H.-B.), THIENES (C.-H.). — *Fungicidal action of certain oils and stearoptens*, J. Am. Med. Assos. 84, 1895-1896 ; 1925.

— *Comparative fungicidal action of certain volatile oils*, J. Pharmacol. Expl. Therap. 27 Proc. 248 ; 1926.

— *An unappreciated fungicidal action of certain volatile oils*, J. Am. Med. Assos. 89 ; 1834, 1836, 1927.

NOLLER (E.), SPENDLOVE (J.-C.). — *An appraisal of the soluble gelatin foam filter as a sampler for bacterial aerosols*, Appl. Microb. 4, 300-306 ; 1956.

OKAZAKI (K.), KATO (H.), WAKATOBE (T.). — *Antibacterial action of higher plants*, J. Pharm. Soc. Japan 70, 353 ; 1950 — 71, 1-112 ; 1951 — 72, 558-567 ; 1952 — 73, 344-347, 690-692 ; 1953 — 74, 174-176 ; 1953 — 74, 1131-1133 ; 1954.

OCKLITZ (H.-W.), ROMEIKAT. — *Prophylaxie de l'infection et travail des infirmières dans une crèche*, Arch. Hyg. (Berlin), 143, 172-191 ; 1959.

O'CONNEL (D.-C.), WIGCIN (N.S.B.), PIKE (G.-F.). — *New technic for the collection and isolation of air-born microorganisms*, Science 131, 359-360 ; 1960.

O. M. S. — *La pollution de l'air* (Cinquième rapport du Comité d'experts de l'assainissement), Rapports techniques O. M. S., 157 ; 1958.

PASTEUR (L.). — Ann. de Chimie et Physique, 3e série, 64, 5 ; 1862.

PENFOLD (A.-R.), GRANT (R.). — *Economic utilisation of residues from steam rectification and germicidal value of crude oils and pure active constituents of essential oils of* Eucalyptus cneorifolia, J. Proc. Roy. Soc. N. S. Wales 56, 219-226 ; 1922.

— *Germicidal value of principle commercial eucalyptus oils and their pure constitue on the value of concentrated desinfectants — ibid.* 75, 80, 89 ; 1923.

— *Germicidal value Australian essential oils (exclusive of eucalyptus) and their pure constituents — ibid.* 57, 211-215 ; 1923.

— *Germicidal value of pure constituents of Australian essential oils together with those from some essential oil isolates and synthetics — ibid.* 58, 117-123 ; 1924.
*ibid.* 59, 346-350 ; 1925.
*ibid.* 60, 167-170 ; 1926.

PENFOLD (A.-R.), GRANT (R.-J.). — Proc. Royal Soc. N. S. W. 56, 219 ; 1922 — 57, 80 ; 1923.

PERREYRON. — *Pouvoir antiseptique de certains dérivés du phénol, du thymol, du carvacrol*, Thèse Pharmacie Toulouse 1952.

PERROT (L.). — *Contribution à l'étude du pouvoir antimicrobien de quelques dérivés aromatiques à chaîne latérale allylée, propenylée ou à fonction aldéhydique*, Thèse Pharm., Lyon 1933.

PERROUSE, PERRIN. — *Propriétés pharmacodynamiques de l'essence de niaouli purifiée de Nouvelle Calédonie*, Thèse Pharmacie, Paris 1952.

PÉTRI (R.-J.). — *Eine neue Methode Bakterien und Pilsporen in der Luft nachzuweisen und zu zahlen*, Z. Hyg. 3, 1 ; 1888.

POLLARD (B.-R.), PERRY (S.-E.). — *Haemolytic streptococci in a maternity unit*, Monthly Bull. Minist. Hlth Lond. 18, 46-49 ; 1959.

PORCHER-PIMPARD. — *Contribution à l'étude du pouvoir antiseptique des essences végétales*, Thèse Pharmacie, Toulouse 1942.

PRIOLET. — *Sur une méthode pratique de contrôle bactériologique des atmosphères dans une usine de fabrication et de conditionnements pharmaceutiques*, Tech. Pharmacie 2 ; 1958.

PROCTOR. — *The microbiology of the upper air*, Proc. Ann. Acad. Act. and Sc. 69, 315 ; 1934 — Journ. of. Bact. XXIX, 35, 80 et XXX, 35, 363.

PROCTOR (B.), PARKER (B.). — *Microbiology of the upper air : improved apparatus and technic for upper air investigations*, J. of. bact. XXXVI, 38, 175 ; 8 septembre.

PUCK (T.-T.), ROBERTSON (G.-H.). — *The bactericidal action of propulene glycol vapor on microorganisms suspended in air. The influence of various factors on the activity of the vapor*, J. exp. Med. 78, 387 ; 1943.

PUCK (T.), WISE (H.). — *Glycols*, J. Physic. Chem. 50, 329 ; 1946.

— *The mechanism of aerial disinfection by glycols and other chemical agents*, J. Exp. Med., 85, 729 ; 1947.

RANGER (I.), O'GRADY (F.). — *Dissemination of micro-organisms by a surgical pump*,. Lancet 2, 299-300 ; 1958.

RECHMENSKY (S.-S.), MITCHENKO (V.-P.). — *Determination of virus aerosols by means of gelatin foam filters*, Voproos. Virusol., 2, 101-103 ; 1958.

RÉGNIER (J.), LAMBIN (S.). — *Contribution à l'étude de la mesure des valeurs antimicrobiennes des substances chimiques*, Bull. de l'Académie de Médecine CV, 455 ; 1931.

RICHARDS (M.). — *A water-soluble filter for happing airborn microorganisms*, Nature (London), 176, 559-560 ; 1955.

RIDEAL (S.), RIDEAL (E.-K.), SCIVER (A.). — *An investigation into the germicidal powers and capillary activities of certain essential oils*, Perfumery essent. Oil Record, special ed. (déc.), 19. 285, 304 ; 1928.

RIDÉAL (C.), WALKER (A.). — *Approved technic of the Rideal-Walker test*, London 1921.

RIDÉAL (S.), SAVER (A.). — *L'action germicide et l'activité capillaire de certaines essences*, Perf. ess. Oil. Rec. XIX, 285 ; 1928.

RIDÉAL (E.-K.), SCIVE (A.), RICHARDSON (N. E. G.). — Perf. and ess. Oil Record, XXI, 341 ; 1930.

RIGAUX. — *Le « Goménol »*, Thèse Pharmacie, Lyon 1907.

RILEY (R.-L.). — *Aerial dissemination of pulmonary tuberculosis*, Amer. Rev. Tuberc., 76, 931-941 ; 1957.

RISLER (J.), COURSIER. — *La désinfection effective et permanente par la méthode d'imprégnation et de micronisation*, Omnes & Cie ed., Paris 1932.

RISLER (J.). — *Les essences*, C. R. Ac. Sc. 203, 517 ; 1936.

— *Essential oils as bactericides*, Mfg Chemist, 7, 404 ; 1936.

— *Immediate and prolonged antiseptic action of essential oils*, C. R. Soc. Biol. 203, 517-519 ; 1936.

RITZERFELD (W.). — *Etude de l'action des huiles essentielles sur les bactéries par la méthode de Warburg*, Ztsch Hyg. 145, 209 ; 1958.

— *Sur la question de l'action des huiles essentielles sur les microorganismes pathogènes*, Arnzeim. 9/8, 521 ; août 1959.

ROBERTSON (O.-H.), BIGG (E.), PUCK (T.-T.), MILLER (B.-F.). — *The bactericidal action of propylene glycol vapor on microorganisms suspended in air*, J. Exp. Med. 75, 595 ; 1942.

ROBERTSON (O.-H.), HAMBURGER (M.-J.), LOOSLI (C.-G.), PUCK (T.-T.), LEMON (H.-M.), WISE (H.-M.). — *The construction and operation of experimental rooms for the study of air-born infection*, J. A. M. A., 126, 883 ; 1944 — J. exp. Med. LXXXIV ; 1er décembre 1946, 559.

ROBERTSON (O.-H.). — *Air-born infections. The dispersal of respiratory pathogens and their control*, Amer. Rev. Tuberc., 1947 ; 55, 109.

ROBERTSON (O.-H.), LESTER (W. Jr). — *The lethal effect of triethylene glycol vapor on dried air-born bacteria*, Amer. I. Hyg., 53, 69-79 ; 1951.

ROBERTSON (O.-H.). — *Symposium sur les infections staphylococciques en milieu hospitalier*, Annales of surgery Philadelphie 150-4, 768-770 ; octobre 1959.

ROCHAIX (A.), SEDAILLAN (P.), SOHIER (P.). — *Traité d'hygiène*, Masson ed., Paris 1946.

ROCHUSSEN (F.). — *Ätherische Öle und Riechstoffe*, Walter de Gruyter and Co éditeur, Berlin-Leipzig 1926.

ROLLE (M.), MAYER (H.). — Tierarztliche Umschau 1954 ; 5/6, 83, 86.

ROSEBURY (T.). — *Experimental air-born infection*, Williams and Wilkins C° éd. Baltimore 1947.

ROSEBURY (T.), MEILEJOHN (G.), KINOSLAND (L.-C.), BOLOT (M.-H.). — *Disinfection of clouds of meningopneumonitis and psittacosis viruses with triethylene glycol vapor*, J. exp. Med. 85, 65 ; 1947.

ROSENOV (E.-C.). — *Specificity of nonhemolytic streptococci as isolated from outdoor air in relation to the seasonal occurence of influenza or milder respiratory infections and poliomyelitis*, Bact. Proceed. 116 ; 1950.

ROSENSTERM (I.). — *Control of air-born infections in a nursery for young infants*, Amer. J. Dis. Children 75, 193-202 ; février 1948.

ROUSSEAU. — *Etude toxicologique des glycols*, Thèse Pharmacie Paris, 1945.

RUEHLE (G. L. A.), BREWER (C.-M.). — *U. S. F. D. A. methods of testing antiseptics and desinfectants*, U. S. Department of Agriculture Circular n° 198 ; 1931.

SALLE (A.-J.). — *Fundamental principles of bacteriology*, New York 1954.

SARTORY (A.), LANGLAIS (N.). — *Poussières et microbes de l'air*, Poinat éd., Paris 1912.

SAUTREAUX (M.). — *Contribution à l'étude de la stérilisation de l'air des salles d'opérations*, Thèse Pharm., Lyon 1939.

SCHAWABACHER (H.). — *Control of infection by* Staphylococcus aureus *in a urological ward*, Monthly Bull. Minist. Hlth (Lond) 17, 23-25 ; 1958.

SCHIMMEL BERICHT, 1927.

SCHRŒDER (M.-P.), MESSING (A.-M.). — *Methods for comparing the antibacterial activity of essential oils and other aqueous insoluble compounds*, Bull. Nat. Formulary Comm. 17, 213-218 ; 1949.

SEDAILLAN (P.), BERTOYE (A.). — *Hygiène du premier âge*. Traité d'Hygiène, Masson éd., Paris 1946.

SEVELINGE (L.). — *Contribution à l'étude des pouvoirs infertilisants des essences de menthe et de leurs principaux constituants*, Thèse Pharmacie, Lyon 1929 et Parfum. Moderne 25, 209 ; 1931.

THÉBAUD. — *Le niaouli et son essence*, Thèse Pharmacie, Marseille 1938.

THURKAUF. — *Contribution à l'étude physicochimique de l'essence absolue de lavande*, Thèse Pharmacie Strasbourg 1929.

TORLONI (M.), BORZANI (W.). — *A filtration method for the determination of concentration of microorganisms in air*, Univ. Appl. Microb. 6, S 152-254 ; 1958.

TRILLAT (A.), MALLEIN. — *Sur le sort des projections microbiennes dans l'air. Influence de l'humidité*, C. R. Acd. Sciences, CLXX, 1291-93 ; 25 mai 1920.

TRILLAT (A.). — *Rôle de l'air expiré dans la transmission des épidémies*, Revue d'hygiène TXL, 644-648 ; novembre 1918.

— *Influence de la variation de la pression barométrique sur les gouttelettes microbiennes en suspension dans l'atmosphère*, C. R. Ac. Sciences CLXX, 538, 48 ; 1er mars 1920.

TRILLAT (A.). — *Expérience de transmission d'une épidémie chez les animaux par l'intermédiaire de l'air. Influence de la température*, Rev. d'Hyg. et Police Sanit., XLII, 394-98 ; juin 1920.

— *Activité de l'infection par voie aérienne*, C. R. Acad. Sc. CLXXV, II, 109-11 ; juillet 1921.

— *Influence de l'humidité et de l'état vésiculaire sur la diffusion des gouttelettes microbiennes dans l'air*, C. R. Acad. Sc. CLXXV, 328-31 ; 7 août 1922.

— *Etudes des poussières aqueuses microbiennes des locaux habités*, C. R. acad. Sc. 160-153 ; 1947.

Umbreit (W.-W.). — *Advances in applied microbiology*, Academic Press éd., New York 1959.

Valette (L.). — *Un nouvel excipient huileux hydrophile*, Thèse Doc. Vét., Lyon 1957.

Vanini (G.-C.). — *Su un nuovo tipo di filtro per l'esame batteriologico dell'aria*, Igiene mod. 50, 429-437 ; 1957.

Vanini (G.-C.), Campana. — *Ulteriori ricerche sull'impiego dei filtri di glutamate di sodio per l'esame batteriologico dell'aria*, Igiene mod. 51, 928-934 ; 1958.

Varella (G.), Percastegui (M.-G.). — *Estudio bacteriologico del aire en la ciudad de Mexico*. Rev. Inst. Salub. Enferm. trop. 1957 ; 17, 121-126.

Vautreaux. — *Contribution à l'étude de la stérilisation de l'air des salles d'opérations*, Thèse Pharmacie Lyon 1939.

Velu (H.). — *L'antisepsie par les essences en médecine vétérinaire*, Parfum. Mod. xv, 133 ; 1922.

Velu (H.), Guillot (G.). — *Les aérosols microbiens et l'infection aerogène*, Acad. Méd. Prix Martin 1944.

Vigne. — *Assainissement des eaux résiduaires d'un hôpital de contagieux*, Thèse Pharm., Marseille ; 1953.

Volckringer (J.). — *Contribution à l'étude de l'évolution et de l'unification des formulaires et des pharmacopées*, Thèse Pharm., Paris 1953.

Von Behring. — *Über Desinfection, Desinfectionsmittel und Desinfectionsmethoden*, Z. Hyg. Infektions-krankh 9, 395-478 ; 1890.

Wells (W.-P.). — *Air-born infection and sanitary air control.* — Amer. J. Public. Health 23, 58 ; 1933 — Ind. J. Hyg. 17, 253 ; 1935.

— *Air-born infections*, Modern Hosp. 51, 66 ; 1938.

— *Radiant disinfection of air*, Arch. Phys. Therapy 23, 142 ; 1942.

— *Measurement of air-born infection by the disinfection of air*, Am. J. Med. Sc. 209, 177 ; 1945.

— *Air-born contagion and air hygiene. An ecological study of droplets infections*, Haward Univers. Press Cambridge Mass. éd. 1955.

Wells (W.-P.) et Coll. — *Infection of air : bacteriologic and epidemiologic factor*, Amer. J. Publ. Health xxix, 863 ; août 1939.

Wells et Coll. — *Bacteriologic procedures in the evaluation of methods for control of air-born infections*, Amer. J. Publ. Hlth 36, 324-331 ; avril 1946.

— *On the mechanics of droplet nuclei infection. Apparatus for the quantitative study of droplet nuclei infection in animals*, Amer J. Hyg. 47, 1-10 ; 1948.

Wells (W.P.), Ratcliffe (H.-L.), Crumb (C.). — *Quantitative experimental air-born tuberculosis in rabbits — Ibid.* 11, 28 ; 1948.

Wheeler (S.), Jones (T.-D.). — *Factors in the control of the spread of acute respiratory infections with reference to streptococcal illness and acute rheumatic fever*, Am. J. Med. Sc. 209, 58 ; 1945.

Williams (R. E. O.). — *Examination of floor dust for haemolytic streptococci*, J. Hyg. 47, 416-425 ; 1949.

Williams (R.E.O.), Hirch (A.), Lidwell (O.-M.). — *Bacterial contamination of air in underground trams*, Lancet 128 ; 1950.

— *The bacterial flora of the air of occupied rooms*, J. Hyg. Lond. 54, 512-523 ; 1956.

Witzenhausen (G.). — Arch. Hyg. 136, 437 ; 1952.

Wolff. — Saarl. Arztblatt 3 h 1951.

Wolf (H.-W.), Harris (M.-M.), Dyer (W.-R.). — Staphylococcus aureus *in air of an operating room*, J. Amer. Med. A22, 1983-1987 ; 1959.

# TABLE DES MATIÈRES

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA DÉSINFECTION CHIMIQUE DES ATMOSPHÈRES

## Étude des propriétés antibactériennes de cinquante quatre huiles essentielles

---


INTRODUCTION

I - ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE GÉNÉRALE

HISTORIQUE ..... 21

FLORE DE L'AIR ..... 23

1. Flore de base ..... 23
2. Flore accidentelle ..... 23

4. FACTEURS INTERVENANT DANS LA DISSÉMINATION ET LA REPRODUCTION DES GERMES DE L'AIR ..... 25

*a*) Véhicules microbiens ..... 25
*b*) Autres facteurs ..... 26

5. FLORES PARTICULIÈRES ..... 28

*a*) Hygiène humaine et individuelle ..... 28
*b*) Milieu hospitalier ..... 28
*c*) Collectivités ..... 29
*d*) Industrie ..... 30
*e*) Industrie alimentaire ..... 30
*f*) Hygiène vétérinaire ..... 31

## II - TECHNIQUES D'ÉTUDE ET DE PRÉLÈVEMENT DES GERMES DE L'AIR


1. Etude de différents procédés décrits dans la littérature ..... 35

*a*) Sédimentation simple ..... 35

*b*) Sédimentation accélérée ..... 36

*c*) Précipitation électrostatique ..... 37

*d*) Techniques de barbotage ..... 38

*e*) Filtration ..... 39

2. Méthodes proposées ..... 41

*a*) Sédimentation simple ..... 41

*b*) Filtration ..... 44


## III - ÉTUDE DES PROCÉDÉS CHIMIQUES DE DÉSINFECTION DE L'AIR


A. Produits chimiques divers ..... 47

1. Historique et produits utilisés ..... 47

2. Procédés de répartition dans l'atmosphère ... 55

B. Huiles essentielles ..... 57

1. Définition et historique ..... 57

2. Méthodes d'étude par contact en phase liquide 69

3. Méthodes d'étude en phase vapeur ..... 72

*a*) Méthode « au fil » ..... 73

*b*) Microatmosphère ..... 73

*c*) Faible volume ..... 74

*d*) Pièces normales ..... 75

4. Essai d'innocuité des désinfectants ..... 80

## IV - ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DU POUVOIR ANTIBACTÉRIEN DE CINQUANTE QUATRE HUILES ESSENTIELLES


1. Matériel étudié ..... 85
(nomenclature et définition des essences et composés aromatiques expérimentés)

2. Techniques d'étude ..... 110

A. Les germes tests ..... 110

B. Milieux de culture ..... 112

C. Méthodes expérimentales ..... 113

1) Méthode des disques ..... 114

*a*) Technique ..... 114

*b*) Discussion ..... 117

2) Méthode des microatmosphères ..... 118

*a*) Technique ..... 118

*b*) Discussion ..... 118

3) Méthode sur bouillon ..... 121

*a*) Technique ..... 121

*b*) Discussion ..... 122

3. Résultats ..... 124

*a*) Méthode des disques ..... 124

*b*) Méthode des microatmosphères ..... 126

*c*) Méthode sur bouillon ..... 129

4. Interprétation des résultats ..... 151

CONCLUSION 159

BIBLIOGRAPHIE 165

ACHEVÉ D'IMPRIMER
SUR LES PRESSES DE M. LESCUYER ET FILS
139, COURS ALBERT-THOMAS
LYON